

**T. C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR

**MELATONİNİN METABOLİK SENDROM MODELİ  
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KARDİYAK İYON  
KANALLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

(Doktora Tezi)

**Mehmet Akif OVALI**

**Referans no: 10191044**

EDİRNE – 2020

**T. C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR

**MELATONİNİN METABOLİK SENDROM MODELİ  
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KARDİYAK İYON  
KANALLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**(Doktora Tezi)**

**Mehmet Akif OVALI**

**Destekleyen Kurum: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP 2018/291)**

**Tez No:**

**EDİRNE – 2020**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince göstermiş olduğu engin hoşgörüsü yanısıra bilimsel bakış açısı kazanmamda büyük emeği olan değerli danışman hocam sayın Prof.Dr. Selma Arzu VARDAR'a, fizyolojinin değerini kavramamda büyük katkıları olan hocalarım Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU, Prof.Dr. Levent ÖZTÜRK, Dr.Öğr.Üyesi Oktay KAYA'ya, akademisyenlik sürecimin her aşamasındaki desteklerinden dolayı sayın hocalarım Prof.Dr. Metehan UZUN, Prof.Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU ve Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU'na, değerli hocalarım Prof.Dr. Suat ERDOĞAN ve Dr.Öğr.Üyesi Özlem ÖZTOPUZ'a, deneysel aşamalarda yardımlarını esirgemeyen Arş.Gör. Pınar TAYFUR ve Y.Lisans Öğr. Burcu ŞEN'e, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (TÜBAP), hayatımın kıymetlileri saygıdeğer eşim, annem, babam, ablam ve canım kızıma, varlığımı borçlu olduğum güzel vatanım Türkiye Cumhuriyeti Devleti'ne teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
KARDİYAK İYON KANALLARI VE FONKSİYONLARI.....	3
METABOLİK SENDROM.....	11
FRUKTOZ METABOLİZMASI.....	14
METABOLİK SENDROM VE KARDİYOVASKÜLER ETKİLERİ.....	15
MELATONİN SALGILANMASI VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ.....	17
MELATONİN, SİRKADYEN RİTİM VE METABOLİK SENDROM İLİŞKİSİ.....	20
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	23
BULGULAR.....	33
TARTIŞMA.....	57
SONUÇLAR.....	64
ÖZET.....	66
SUMMARY.....	68
KAYNAKLAR.....	70
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	91
EKLER	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ACTB</b>	:Actin Beta
<b>AİDÇG</b>	:Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu
<b>AVD</b>	:Atriyoventriküler düğüm
<b>cNBD</b>	:Cyclic nucleotid binding domain
<b>CP</b>	:Crossing point
<b>DSÖ</b>	:Dünya Sağlık Örgütü
<b>EKG</b>	:Elektrokardiyografi
<b>ELISA</b>	:Enzyme linked immunosorbent assay
<b>GLUT</b>	:Glikoz taşıyıcı protein
<b>HDL</b>	:Yüksek yoğunluklu lipoprotein
<b>hERG</b>	:Human ether-à-go-go-related gene
<b>HOMA-IR</b>	:Homeostasis Model Assessment Index
<b>LDL</b>	:Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>PAS</b>	:Per-Arnt-Sim
<b>qRT-PCR</b>	:Quantitative Real Time-PCR
<b>SAD</b>	:Sinoatriyal düğüm
<b>SKN</b>	:Suprakaryotik nükleus
<b>UDF</b>	:Uluslararası Diyabet Federasyonu
<b>UKEP YTP III</b>	:Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavisi Paneli III

## GİRİŞ VE AMAÇ

Metabolik sendrom insülin direnci, dislipidemi, abdominal obezite, hiperglisemi ve artmış kan basıncı gibi birçok bileşenin bir arada görülebildiği metabolik bir anormalliği ifade etmektedir (1). Modern toplumlarda tüketim miktarı giderek artmakta olan fruktoz birçok besin maddesinde kullanılmaktadır. Ancak fruktozdan zengin beslenmenin, abdominal obezite, dislipidemi, insülin direnci ve artmış kan basıncı gibi hemodinamik bozuklukların birlikte olduğu metabolik sendrom görülme sıklığında artışa yol açtığı bilinmektedir (2). Fruktozun diğer karbonhidratlara göre daha tatlı olması, birçok gıda ile rahatlıkla karışabilmesi, sahip olduğu yüksek enerji yükü, oluşturduğu tokluk hissinin glikoza kıyasla daha az olması, daha uzun raf ömrü ve maliyet ucuzluğu gibi özellikleri nedeniyle tüketimi son yıllarda artmıştır. Ayrıca günümüz çağdaş toplumlarında çocukluk döneminden itibaren mısırdan elde edilen fruktozla üretilen yiyecek ve içeceklerin tüketimi oldukça büyük bir yere sahiptir (3). Bu bulgulara ek olarak, son yıllarda metabolik sendromun kalpte bozulmuş ventriküler repolarizasyon süresi, atriyal fibrilasyon, supraventriküler ya da ventriküler aritmiler oluşturabileceği de bildirilmiştir (4).

Metabolik sendromla birlikte aritmi ve atrial fibrilasyon gibi bazı kardiyovasküler hastalıklar meydana gelmektedir (5-7). Metabolik sendromda elektrokardiyografi (EKG) verileri incelendiğinde QT süresinin değişimiyle birlikte atrial fibrilasyon ve *torsade de pointes* tipi aritmilerin görüldüğü bildirilmiştir. Bu durumla ilgili olarak ventriküler repolarizasyonda önemli rol oynayan potasyum ( $K^+$ ) iyon kanallarının ekspresyonlarının değişim gösterdiği belirtilmektedir (4). Ancak bu değişimin hangi faktörlere bağlı olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Metabolik sendromlu kişilerde sirkadyen ritimdeki düzensizliğe bağlı olarak melatonin salgılanmasında belirgin şekilde azalma olduğu bildirilmiştir ve bu kişilerin kalp krizi ve aritmiye yatkınlıkları da söz konusudur (8). Melatoninin kardiyoprotektif etkileri de son yıllarda birçok bilim insanı tarafından araştırılmaktadır (9-11). Ayrıca melatoninin hem kan damarları hem de sol ventrikülde reseptörlerinin bulunduğu ve kardiyovasküler sistem bozukluklarında olumlu sonuçlar doğurabilecek etkilere sahip olduğu iddia edilmektedir (12).

Melatoninin fruktozdan zengin beslenme modeli uygulanan sıçanlardan izole edilen kalplerde ventriküler aritmiyi önlediği rapor edilmiştir (13). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda ise melatonin uygulanan metabolik sendromlu sıçanlarda kilo alımı ve insülin direnci azalırken, HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) düzeyinin arttığı, artmış LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) ve trigliserit düzeylerinin ise azaldığı belirtilmektedir (14,15). Diğer taraftan melatoninin artmış kan basıncıyla artmış kalp atım hızını düşürmesi, metabolik sendromda kullanılabilirliğini akıllara getirmektedir. Biz de metabolik sendromda melatoninin  $K^+$  iyon kanalları üzerine olan etkilerinin bilinmesinin metabolik sendromlu kişilerde oluşabilecek kardiyak ventriküler aritmilerin mekanizmalarının anlaşılabilmesi açısından önemli olduğu düşündük.

Ayrıca melatonin ile metabolik sendrom arasındaki ilişkinin araştırılmasıyla çağımızda birçok kişide görülen ve görülme sıklığı giderek artan metabolik sendrom ile ilgili yapılan güncel araştırmalara katkı sunulması ve metabolik sendromun tedavisine yönelik kardiyovasküler iyon kanalları üzerinden yeni bir bakış açısı kazandırılması amaçlanmaktadır.

Bu amaçla bu tez çalışmasında sıçanlarda fruktozdan zengin beslenme yoluyla oluşturacağımız metabolik sendrom modelinde; hipertansiyonda ve bazı kan parametrelerinde (insülin, glikoz, HOMA-IR, HDL, LDL, trigliserit, total kolesterol), EKG'de QT süresi değişiminde ve kardiyak aksiyon potansiyeli repolarizasyon fazında büyük öneme sahip bazı  $K^+$  iyon kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonları üzerinde melatonin hormonunun etkilerinin araştırılmasıyla melatonin ve metabolik sendrom ilişkisinin kardiyovasküler açıdan değerlendirilmesini hedefledik.

## GENEL BİLGİLER

### KARDİYAK İYON KANALLARI VE FONKSİYONLARI

Sağlıklı bir kardiyak fonksiyonda kalbin çeşitli bölgelerinde uygun uyarılma ve kasılma zamanlaması ile uygun kalp atım hızı görülmektedir. Bu durum sinoatriyal düğüm (SAD), atriyum, atriyoventriküler düğüm (AVD), His-Purkinje sistemi ve ventriküller dahil olmak üzere sistemin çeşitli bileşenlerinin kendilerine özgü elektriksel özellikleri ile gerçekleştirilir. Bölgesel kardiyak fonksiyon ve işlev bozukluklarının moleküler ve iyonik temellerine ilişkin bilgiler mevcut bozuklukları anlamak ve mekanizmaların aydınlatılması bakımından temel öneme sahiptir. Bölgesel olarak çeşitli elektrofizyolojik özellik ve fonksiyonlar, kalpteki iyon kanalı ekspresyonunun heterojenliğinden kaynaklanmaktadır. Kalp hastalıklarında kalp kasındaki iyonik yeniden şekillenmenin (*remodelling*) iyon kanalı ekspresyonunu ve fonksiyonunu nasıl değiştirdiğini açıklamak kritik öneme sahiptir (16).

Kalp hücrelerinin elektriksel özellikleri önder odak olan ve önder odak olmayan hücreler olarak iki temel hücre tipinde kategorize edilebilir. Önder odak hücreleri öncelikle kalbin SAD ve AVD bölgelerinde bulunur. Üst *vena cava*'nın girişine yakın sağ atriyumun üst arka duvarında bulunan SAD, kalbin hızını ve ritmini sürdürmek için primer önder odak bölgesi olarak işlev görür (17).

Normal kardiyak ileti SAD'dan kaynaklanır ve AVD'ye ulaşmak için atriyum boyunca yayılır. Elektriksel aktivite, atriyoventriküler düğümden ventriküllere ulaşmak için His-Purkinje sisteminden hızla geçer ve koordineli kardiyak kasılma-gevşeme eylemini tetikler. Farklı kardiyak bölgeler, birbirinden farklı iyon akımlarından kaynaklanan spesifik aksiyon potansiyeli morfolojisi ve süresi ile karakterizedir (16).



Canlı hücreler iyonların hücre zarındaki dağılımlarına bağlı olarak hücre içinde hücrenin dışına göre negatif olan bir dinlenme membran potansiyeline sahiptir. Hücre membranlarında bulunan ve protein yapıda olan iyon kanalları, hücreye iyon giriş-çıkışlarını kontrol ederek hücre fonksiyonlarını düzenlerler. Membran potansiyeline katkıda bulunan en önemli iyonlar sodyum ( $\text{Na}^+$ ), potasyum ( $\text{K}^+$ ), kalsiyum ( $\text{Ca}^{++}$ ) ve klor ( $\text{Cl}^-$ ) iyonlarıdır. Tipik bir hücrede,  $\text{K}^+$  konsantrasyonu hücre içinde dışarıdakine göre daha yüksektir. Buna karşılık  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonları hücre dışında hücre içinde olduğundan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur (17).

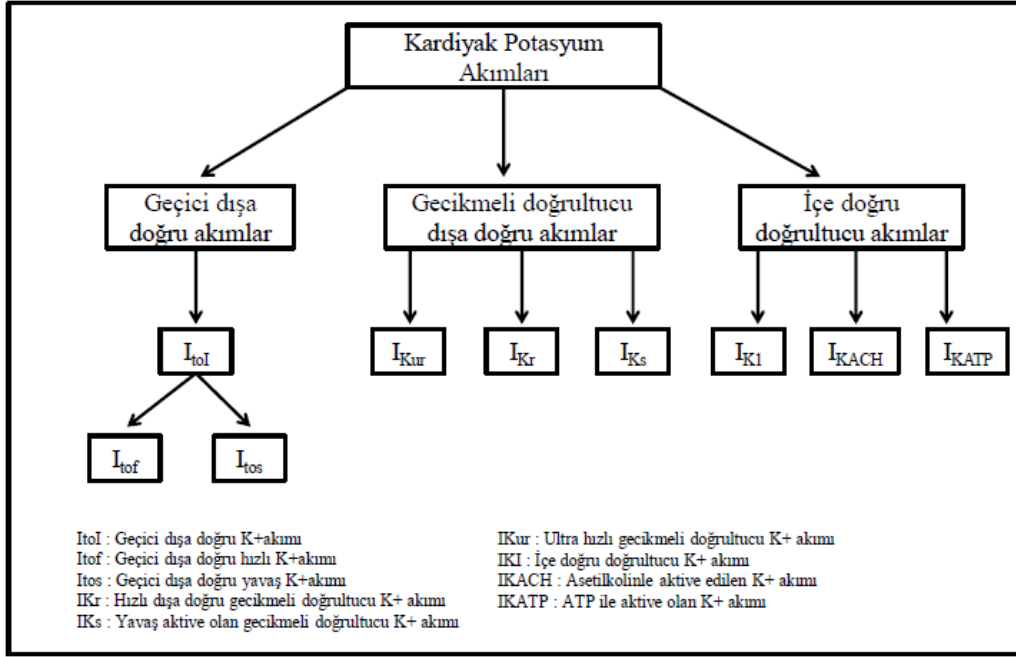
Kalbin elektrofizyolojik uyarımının düzenli aralıklarla olması miyositler aracılığıyla oluşturulan normal bir kardiyak aksiyon potansiyeli oluşumuna bağlıdır. Aksiyon potansiyelinin depolarizasyonu ve repolarizasyonu, spesifik membran iyon kanallarının aracılık ettiği birçok çoklu, birbiriyle etkileşim içinde olan, içe ve dışa iyon akımları tarafından düzenlenir (18).

Başlangıç hızlı depolarizasyon fazı esas olarak içeriye doğru  $\text{Na}^+$  akımı ( $I_{\text{Na}}$ ) tarafından voltaj kapılı sodyum kanalları ( $\text{Nav}1.5$ ) yoluyla oluşturulur. Bunu izleyen plato fazında içe doğru  $\text{Ca}^{++}$  akımı ( $I_{\text{Ca}}$ ) görülür. Sonuçta elde edilen hücre dışı  $\text{Ca}^{++}$ , sarkoplazmik retikulum  $\text{Ca}^{++}$  depolarının salınmasını uyarır, böylece uyarılma-kasılma aktive edilir. Membranı nihai olarak dinlenme potansiyeline geri döndüren repolarizasyon, esas olarak voltaj kapılı  $\text{K}^+$  kanallarından ( $\text{Kv}$ ) dışarı doğru olan  $\text{K}^+$  akımı tarafından yönlendirilir. Bu nedenle  $\text{K}^+$  kanalı aktivitesi, depolarizasyon süresini ve dolayısıyla hem  $\text{Ca}^{++}$  aracılı kasılmanın süresini hem de refrakter periyodu sınırladığı için aksiyon potansiyeli süresinin temel belirleyicisidir. Her biri belirli kinetik ve voltaja bağlı özelliklere sahip çok sayıda ve çeşitli  $\text{K}^+$  kanalı tipi vardır (19).

### **Kardiyak Potasyum Kanalları**

Kardiyak potasyum kanalları fonksiyonel olarak en çok çeşide sahip kardiyak iyon kanallarıdır (20). Potasyum kanallarının açılması  $\text{K}^+$  iyonu akışına neden olur ve bunun sonucunda hücrenin hiperpolarizasyonu membran potansiyelini stabilize eder ve hücrenin uyarılabilirliğini azaltır. İnsan genomu,  $\text{K}^+$  kanallarını kodlayan 70' ten fazla gen içerir ve bu da fonksiyonel  $\text{K}^+$  kanal türlerinin sayısını önemli ölçüde artırmaktadır. Kalp kasına ek olarak diğer uyarılabilir hücrelerde de intrinsek elektriksel özelliklerin birincil düzenleyicileri olarak  $\text{K}^+$  kanallarının kritik role sahip olduğu bilinmektedir. Potasyum kanalları uyarılabilen ve uyarılamayan hücrelerde hücre hacmini, hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını, hücrenin hayatta kalmasını, aksiyon potansiyelinin yüksekliği ve süresi ile refrakter dönemin süresini kontrol etmektedir (21,22).

Kardiyak  $K^+$  kanalları geçirgenlik özellikleri, membran potansiyeline bağlılık, açma veya kapama aktivasyon ve inaktivasyon kinetiklerine göre farklılıklar gösterir. Başlıca potasyum iyon akımı türleri geçici dışa doğru akımlar, gecikmeli doğrultucu dışarı akımlar ve içe doğru doğrultucular olarak sınıflandırılabilir (Kardiyak Potasyum akımları ve kanalları, Şekil 1). Aşağıda kardiyak  $K^+$  iyonu akımları ve fonksiyonel açıdan önemleri belirtilmiştir.



Şekil 1. Kardiyak potasyum akımları ve kanalları (18)

**Geçici dışa doğru  $K^+$  ( $I_{totl}$ ) akımları (*Transient outward  $K^+$  ( $I_{totl}$ ) currents*):** Bu  $K^+$  akımının iki farklı tipi bulunmaktadır. Bunlardan ilki olan  $I_{totl}$  ekstraselüler  $Ca^{++}$  dan etkilenmezken diğeri  $I_{tos}$  ise ekstraselüler  $Ca^{++}$  miktarına karşı duyarlıdır. Epikardiyum, sağ ventrikül ve septum gibi daha kısa aksiyon potansiyeli süresine sahip bölgelerde  $I_{to}$  ekspresyonu daha fazladır (23). Ayrıca  $I_{totl}$  hızlı ( $I_{tof}$ ) ve yavaş ( $I_{tos}$ ) olarak ayrılmıştır. Atriyumda  $I_{tof}$  baskınken ventriküllerde hem  $I_{tof}$  hem de  $I_{tos}$  görülmektedir (24). Geçici dışa doğru  $K^+$  akımları aksiyon potansiyelinin ilk hızlı repolarizasyon aşamasında çok etkindir (23).

**Ultra hızlı gecikmeli doğrultucu akımlar (*Ultrarapid delayed rectifier currents,  $I_{Kur}$* ):** Geçici dışa doğru  $K^+$  ( $I_{totl}$ ) akımlarına ek olarak, ultra hızlı gecikmeli doğrultucu  $K^+$  akımı ( $I_{Kur}$ ) aksiyon potansiyeli repolarizasyonunda ilk hızlı faz olan faz 1'de etkin rol oynar.  $I_{Kur}$ , platoda 10 milisaniyenin altında yüksek hızla devreye girer ve aksiyon potansiyeli boyunca

yavaşça devre dışı kalır.  $I_{Kur}$  atriyumlar için baskın gecikmeli doğrultucu akımdır ve bu nedenle atriyumda ventriküllere kıyasla daha kısa aksiyon potansiyeli süresi görülür (24,25).  $I_{Kur}$  kanalları miyosit yüzeyi üzerinde eşit olarak dağılmaz. Bunun yerine interkale disklerde yüksek yoğunluklarda bulunur. Bu dağılım paterni genellikle kalp iskemi hasarından sonra bozulmaktadır (25,26). Bu kanalın atriyumdaki baskın varlığı, onu atriyal tedaviler için önemli bir hedef haline getirmektedir. Bu kanalın aktivitesinin baskılanması atriyumdaki aksiyon potansiyeli süresini uzatır, ancak ventriküllerde uzatmaz (22).

**Hızlı dışa doğru gecikmeli doğrultucu  $K^+$  akımları (*Rapid delayed rectifier  $K^+$  currents,  $I_{Kr}$* ):** Voltaj kapılı hızlı gecikmeli doğrultucu dışa doğru  $K^+$  akımı ( $I_{Kr}$ ), faz 3 repolarizasyonu için kritik öneme sahiptir. Depolarizasyon ile nispeten hızlı bir aktivasyon gösterir. Bununla birlikte, inaktivasyon oranı, voltaja bağlı C-tipi inaktivasyon nedeniyle aktivasyon oranından yaklaşık 10 kat daha hızlıdır.  $I_{Kr}$  insan kalbinde hem atriyumda hem de ventriküllerde bulunur. Sol atriyum ve ventrikülün endokardında daha yüksek seviyelerde eksprese edilmektedir (24,27,28).

**Yavaş aktive olan gecikmeli doğrultucu  $K^+$  akımı (*Slowly activating delayed rectifier  $K^+$  current,  $I_{Ks}$* ):**  $I_{Kr}$ 'den farklı olarak,  $I_{Ks}$ 'ler faz 2 repolarizasyonunun inaktivasyonunda rol alır ve bu durum faz 3 repolarizasyonunu da önemli ölçüde etkiler (29,30).  $I_{Ks}$ 'lerin bu özelliği, uzun süreli atriyal ve ventriküler aksiyon potansiyellerinde belirgin düzeyde önem taşımaktadır. Ayrıca kalp hızındaki fizyolojik artışlar sırasında aksiyon potansiyeli süresinin kısalması ile de ilgilidir.

Kalp atım hızındaki bir artış  $I_{Ks}$ 'nin inaktivasyonu için gereken süreyi de azaltır. Sonuç olarak, daha fazla  $I_{Ks}$  repolarizasyon oranında da daha dik bir düşüşe neden olur.  $I_{Ks}$ 'lerin bloke edilmesi ise artmış kalp atım hızı durumunda aksiyon potansiyeli süresinde uzamaya neden olur (31-33).  $I_{Ks}$ 'ler tüm kardiyak hücre tiplerinde bulunur, ancak ekspresyonu mid-miyokardiyal duvarda önemli ölçüde azdır. Bu durum bu bölgede görülen uzun aksiyon potansiyeli süresini de açıklamaktadır (24).

**İçer doğru doğrultucu  $K^+$  akımı (*Inward rectifier  $K^+$  current,  $I_{KI}$* ):** İçer doğru doğrultucu  $K^+$  akımı ( $I_{KI}$ ) dar bir membran potansiyel aralığında fonksiyon gösterir.  $I_{KI}$  hem atriyumlarda hem de ventriküllerde bulunmaktadır. Bu nedenle dinlenim membran potansiyellerinin belirlenmesinde rol oynar. Bu kanallar, ventriküllerde daha fazla eksprese edilmektedir. Bu da

ventriküllerin önder odak aktivitesinde daha az hassas hale gelmesine sebep olmaktadır (24,25).

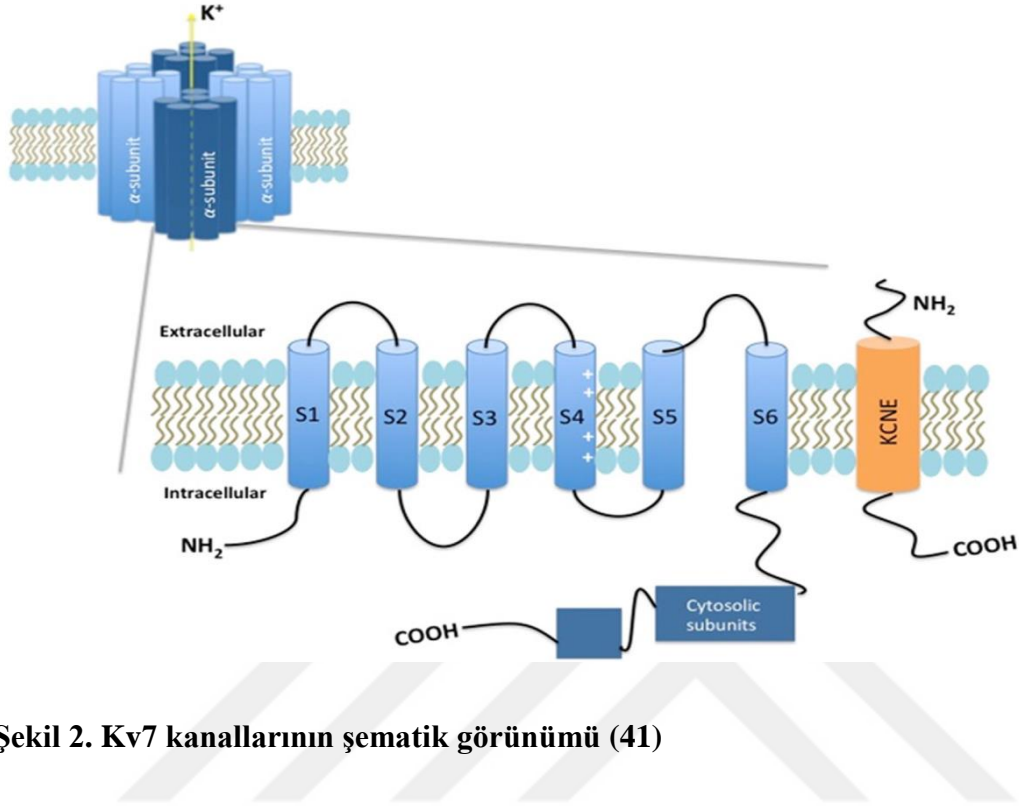
**Asetilkolinle aktive edilen  $K^+$  akımı (*Acetylcholine-activated  $K^+$  current,  $I_{KACH}$* ):** İçeride doğru doğrultucu asetilkolin ile aktive edilmiş  $K^+$  akımı ( $I_{KACH}$ ), voltaja duyarlı olmak yerine G proteinleri aracılığıyla düzenlenir. Asetilkolin  $K^+$ 'un içeride doğru akımına izin veren muskarinik duyarlı  $I_{KACH}$  kanallarını açar. İçeride doğru doğrultucu akım aksiyon potansiyelini kısaltır ve membranı hiperpolarize eder (24,26). Membran hiperpolarizasyonu, aksiyon potansiyeli süresini azaltmanın yanı sıra sinoatriyal ve atriyoventriküler düğümlerin önder odak depolarizasyonunu da yavaşlatmaktadır (26,34).  $I_{KACH}$ 'nin atriyalara özgü olduğu düşünülmektedir. Ancak hem atriyalarda hem de ventrikülde var olabileceği bildirilmekle birlikte atriyalarda ventriküllerden 6 kat daha yoğun ekspresyona olduğu yönünde bildirimler de bulunmaktadır (24,29,35).

**ATP ile aktive olan  $K^+$  akımı (*ATP-activated  $K^+$  current,  $I_{KATP}$* ):** ATP ile aktive olan  $K^+$  akımı ( $I_{KATP}$ ), kardiyomyositlerin hem sarkolemmal (sarc- $K_{ATP}$ ) hem de mitokondriyal içeride (mito- $K_{ATP}$ ) bulunur. Her iki kanal da ATP tarafından kontrol edildiğinden dolayı hücrenin metabolik durumuna doğrudan cevap verir ve sonuç olarak da hücre zarı potansiyelini etkiler (26,36).

### **Kv7 Kanalları**

Moleküler olarak 1996 yılında keşfedilen voltaj kapılı  $K^+$  kanalları (Kv, Kv7 ailesi), çok sayıda hücre tipinin, nöronların, kardiyak miyositlerin yanı sıra epitel ve düz kas hücrelerinin fonksiyonel aktivitesinde de önemli kanallar olarak karşımıza çıkmaktadır (21,37). Voltaj kapılı potasyum kanallarının alfa ve beta olmak üzere iki alt ünitesi bulunmaktadır. Alfa alt ünitesi ( $Kv\alpha$ ) 12 farklı gruba ayrılabilir (Kv1-12). Kv7.1-5 kanalları yavaş aktive olan gecikmeli doğrultucu potasyum kanalları olarak bu grupta yer alır. Beta alt ünitesi alfa alt ünitesiyle birlikte çalışır ve daha çok potasyum kanallarının aktivitesinin modüle edilmesinde görevlidir (38). Memelilerde bulunan Kv kanalları tetramerik bir yapıya sahiptir. Her bir Kv7 alt birimi, altı transmembran segmenti (S1-S6) ve hücre içi N-terminal kısmı ( $NH_2$ ), C-terminal kısmının ( $COOH$ ) terminallerine sahip bir topolojik düzenleme gösterir. S1-S4 bölgeleri voltaja duyarlı alanı oluştururken, S5-S6 bölgeleri ise iyon seçici kısmı oluşturur. S4 alanı, dört ila altı adet pozitif yüklü arjinin içerir. Bu yük, zar voltajındaki değişikliklere yanıt

olarak hareket eder, bu şekilde kanalın açılıp kapanması regüle edilmiş olur (39,40). Kv7 kanallarının yapısı şematik olarak Şekil 2’de gösterilmiştir (41).



**Şekil 2. Kv7 kanallarının şematik görünümü (41)**

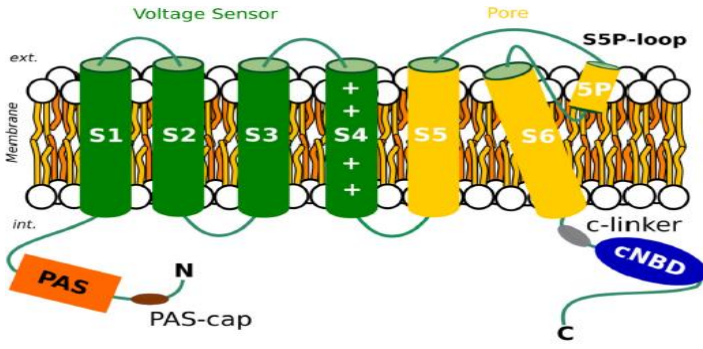
Kv7 kanalları KCNQ gen ailesi tarafından kodlanmaktadır. Bu gen ailesi sırasıyla kromozomal lokus 11p15, 20q13, 8q24, 1p34 ve 6q13'te bulunan beş üyeden (KCNQ 1-5) oluşmaktadır ve her bir KCNQ geni farklı bir Kv7 proteinini eksprese etmektedir (37). Kv7 kanalı alt tipleri olan Kv7.1-5 kanallarının sıçan kalbi sol ve sağ ventriküllerinde, koroner arterlerde ve beyin dokusunda ve ayrıca insan kalbinde de eksprese edildiği bilinmektedir (42). Ayrıca bu kanalların varlığı iç kulak, vasküler doku, gastrointestinal sistem, sinirler ve iskelet kasında da gösterilmiştir (39). Kv7 kanalını kodlayan genlerdeki mutasyonların, kalıtsal uzun QT sendromu, atriyal fibrilasyon, epilepsi ve sağırılık gibi çeşitli kalıtsal bozukluklarla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (37).

Ayrıca Kv7 kanallarının fonksiyonlarındaki değişimlerle metabolik sendrom parametrelerinden olan diyabet, hipertansiyon ve obezite arasında güçlü bir ilişkili olduğu belirtilmektedir (41). Kv7 kanalları ve bu kanalları kodlayan genler diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla çeşitli şekillerde ilişkilendirilebilir. Bunlardan ilki, KCNQ1 genindeki bazı varyantların gelecekte tip 2 diyabet görülme riskinde artış ile pankreatik β hücre fonksiyonunda bozulmaya yol açtığı gösterilmiştir (43). İkinci olarak, uzun QT sendromlu hastalarda görüldüğü gibi KCNQ1 genindeki fonksiyon kaybı mutasyonlarının

hiperinsülinemiye ve devamında da hipoglisemiye neden olduğu belirtilmiştir (44). Üçüncü olarak da diyabetik sıçanlarda hipergliseminin sol koroner arterde Kv7 kanal aktivitesinde, ekspresyonunda ve vazodilatör fonksiyonunda azalma ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (45). Bu nedenle bu tez çalışmasında da incelenmiş olan Kv7 kanallarının hipertansiyon, diyabet ve obezite gibi metabolik sendrom bileşenlerinin önlenmesi ve tedavi edilebilmesi için moleküler hedefler olarak işlev görebileceği dile getirilmektedir (41).

### **Kv11.1 Kanalları**

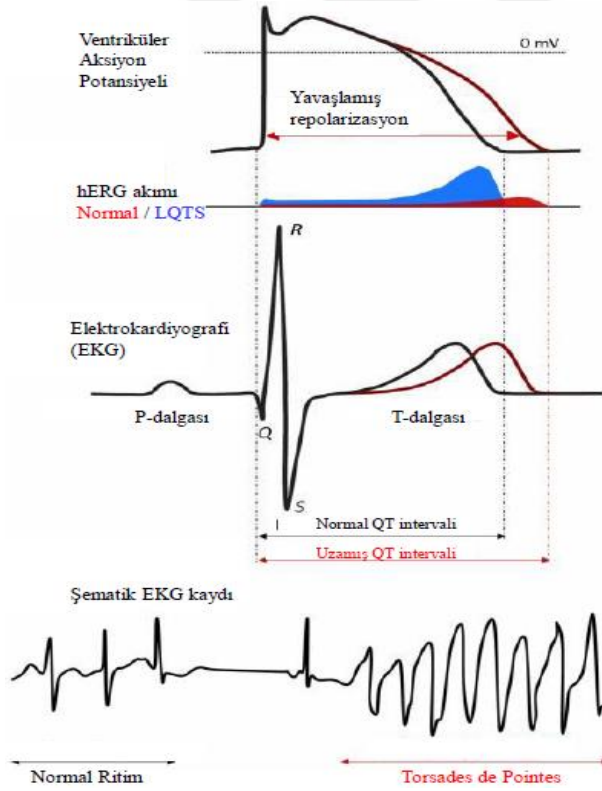
Potasyum iyon kanalının alfa alt birimi olan Kv11.1 kanalı hERG (*human ether-à-go-go-related gene*) veya KCNH2 olarak bilinen gen tarafından kodlanmaktadır. Kv11.1 potasyum kanalı  $\alpha$  alt biriminin, N-terminal kısmı (NH<sub>2</sub>), C-terminal kısmının (COOH) yanı sıra, S5 segmenti ve S6 segmentini içeren por bölgesi dahil 6 membranlı şematik yapısı Şekil 3'de verilmiştir (46). hERG kanalı 1159 amino asit uzunluğundadır. NH<sub>2</sub> terminali, kanal deaktivasyon hızını düzenlemek için önemli olan Per-Arnt-Sim (PAS) bileşenini içerir (47). COOH terminali ise normal hERG trafiğini sağlayan bir siklik nükleotit bağlanma bileşenini (cNBD) içermektedir (48). Bu iyon kanalı kalbin elektriksel aktivitesine kardiyak aksiyon potansiyeli oluşumunun faz 3 evresinde (repolarizasyon fazı) büyük oranda katkı sunmaktadır. KCNH2 geni, hızlı dışa doğru gecikmeli doğrultucu (I<sub>Kr</sub>) iyon kanalını kodlar ve KCNH2 genindeki mutasyonlar veya ilaçlarla dışarıdan yapılan müdahaleler, repolarize edici I<sub>Kr</sub> akımında azalmayla birlikte ventriküler repolarizasyonun uzaması ve EKG'de QT aralığının süresinin uzamasına sebep olmaktadır (49). I<sub>Kr</sub> ile ilişkili kanalların fonksiyonlarının bozulması gibi bazı durumlarda repolarizasyon fazı uzayabilir. Bu da ventriküler aksiyon potansiyeli oluşumunun faz 2 evresinde Ca<sup>++</sup> kanallarının yeniden açılmasına ve beklenmeyen erken postpolarizasyonlara (*early after repolarisations*) neden olabilir. Erken postpolarizasyonların artması beraberinde *torsades de pointes* olarak da bilinen bir çeşit polimorfik ventriküler taşikardilere sebep olabilir (50). Bu durum Şekil 4'de şematize edilmiştir (51). Tersine genetik mutasyonlarla bu kanalın akımı arttığında diğer bir kalıtsal kalp ritmi bozukluğu olan kısa QT sendromu görülmektedir (52).



Şekil 3. Kv11.1 kanalı şematik gösterimi (46)

**PAS-cap:** PAS(Per-Arnt-Sim) şapka bölgesi

**cNBD:** siklik nükleotid bağlanma bölgesi



Şekil 4. Ventriküler aksiyon potansiyeli anormallikleri (51)

## **METABOLİK SENDROM**

Metabolik sendrom ilk olarak 1923 yılında hipertansiyon, hiperglisemi ve gut hastalığının bir araya geldiği bir hastalık olarak tanımlanmıştır (53). Fransa'da Jean Vague adlı bilim insanı, 1950'lerin sonunda, bel çevresi yağlanması, diyabet, ateroskleroz ve gut arasında bir ilişki olduğunu ifade etmiştir (54). Daha sonra, 1967'de Avogaro ve arkadaşları metabolik sendromu tanımlamışlardır ve 1985 yılında Modan yaptığı çalışmada hiperinsülinemi, hipertansiyon, obezite ve glikoz intoleransı arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmüştür (55,56). Günümüzde ise tüm bu hastalıkların bir araya gelmesi artık metabolik sendrom olarak adlandırılmakta ve bu durumun dünya çapında giderek büyüyen bir sorun haline geldiği bilinmektedir.

Metabolik sendrom insülin direnci, abdominal obezite, dislipidemi, artmış kan basıncı ve açlık plazma glikoz düzeyinin  $\geq 100$  mg/dL olması gibi farklı bileşenlerin bir araya geldiği bir metabolik anormalliği ifade etmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet riskindeki artışın yanı sıra, metabolik sendrom obstrüktif uyku apne sendromu, üreme bozuklukları, demans, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı ve bazı kanserler dahil olmak üzere birçok komorbidite ile de ilişkilidir (1).

Metabolik sendrom görülme sıklığı ülkelerin farklı beslenme alışkanlıkları ve gelişmişlik düzeylerine göre farklılık göstermektedir. Bununla beraber metabolik sendrom görülme sıklığı ilerlemiş yaş ve vücut ağırlığındaki artış ile yakından ilişkilidir. Sendromun yaygınlığı tüm dünya ülkelerinde, toplumların karakteristik özelliklerine göre değişkenlik göstermektedir. Görülme sıklığı ilerleyen yaş ve vücut ağırlığı artışıyla yükselmektedir (57). Onat ve ark. (2013)'nin çalışmasına göre metabolik sendrom görülme sıklığı erkeklerde % 45.1 olurken kadınlarda % 54.5 olarak bulunmuştur. Ülkemizde metabolik sendromun erkek bireylerde en yüksek görülme sıklığına 40-49 yaşları arasında ulaşıldığı kadınlarda ise bu durumun 60-69 yaşları arasında görüldüğü sonucuna ulaşılmıştır (58).

Metabolik sendrom, gelişmiş ve az gelişmiş ülkelerdeki popülasyonun % 25'ini üç kat artmış kardiyovasküler mortalite riski ile birlikte etkilemektedir (59). Metabolik sendrom, genel kardiyovasküler mortaliteyi 1.5-2.5 kat arasında arttırmakta ve Alzheimer gibi nörodejeneratif bozukluklarla birlikte, günümüzde en önemli iki ana halk sağlığı probleminin birisi olarak kabul edilmektedir (60).

Metabolik sendromun tanısının konulabilmesi için farklı birçok tanı kriteri belirlenmiştir. Bunlardan hastalığın bileşenlerine dair Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Erişkin Tedavi Paneli III (UKEP YTP III), Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Avrupa İnsülin Direnci Çalışma



Grubu (AİDÇG) ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (UDF) ve gibi çalışma grupları tarafından sınıflandırmalar yapılmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1. Farklı kurumlar tarafından uygulanmakta olan metabolik sendrom tanı kriterleri (61)**

	<b>UKEP YTP III: (2005)</b>	<b>DSÖ (1999)</b>	<b>AİDÇG (1999)</b>	<b>UDF (2005)</b>
<b>Kesinikle gerekli</b>	Hiçbiri	İnsülin direnci (IGT, IFG, T2D)	Hiperinsülinemi (plazma insulin >75 <sup>th</sup> persentil)	Abdominal obezite: bel çevresi ≥94 cm (Erkek), ≥80 cm (Kadın)
<b>Kriterler</b>	Aşağıdaki beş kriterden herhangi üçü	İnsülin direnci veya diabetes ve aşağıdaki beş kriterden ikisi	Hiperinsülemi ve aşağıdaki dört kriterden ikisi	Obezite ve aşağıdaki dört kriterden ikisi
<b>1.Obezite</b>	Bel çevresi > 40 inç (Erkek) veya >35 inç (Kadın)	Bel/kalça oranı>0.90 (Erkek), > 0.85 (Kadın), VKİ>30 kg/m <sup>2</sup>	Bel çevresi ≥ 94 cm (Erkek), ≥80 cm (Kadın)	Abdominal obezite
<b>2. Hiperglisemi</b>	Açlık glikozu ≥ 100 mg/dl	İnsülin direnci	İnsülin direnci	Açlık glikozu ≥ 100 mg/dl
<b>3. Dislipidemi</b>	Trigliserit ≥ 150 mg/dl	Trigliserit ≥ 150 mg/dl veya HDL-C <35 mg/dl (Erkek), <39 mg/dl (Kadın)	Trigliserit ≥ 177 mg/dl veya HDL-C <39 mg/dl	Trigliserit ≥ 150 mg/dl
<b>4. Dislipidemi (İkinci, ayrı kriter)</b>	HDL kolesterol <40 mg/dl (Erkek), <50 mg/dl (Kadın)			HDL kolesterol <40 mg/dl (Erkek), <50 mg/dl (Kadın)
<b>5. Hipertansiyon</b>	>130 mmHg sistolik >85 mmHg diastolik	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg	>130 mmHg sistolik >85 mmHg diastolik
<b>Diğer Kriterler</b>		Mikroalbuminüri		

**UKEP YTP III:** Ulusal kolesterol eğitim programı yetişkin tedavisi paneli ııı

**DSÖ:** Dünya sağlık örgütü

**AİDÇG:** Avrupa insülin direnci çalışma grubu

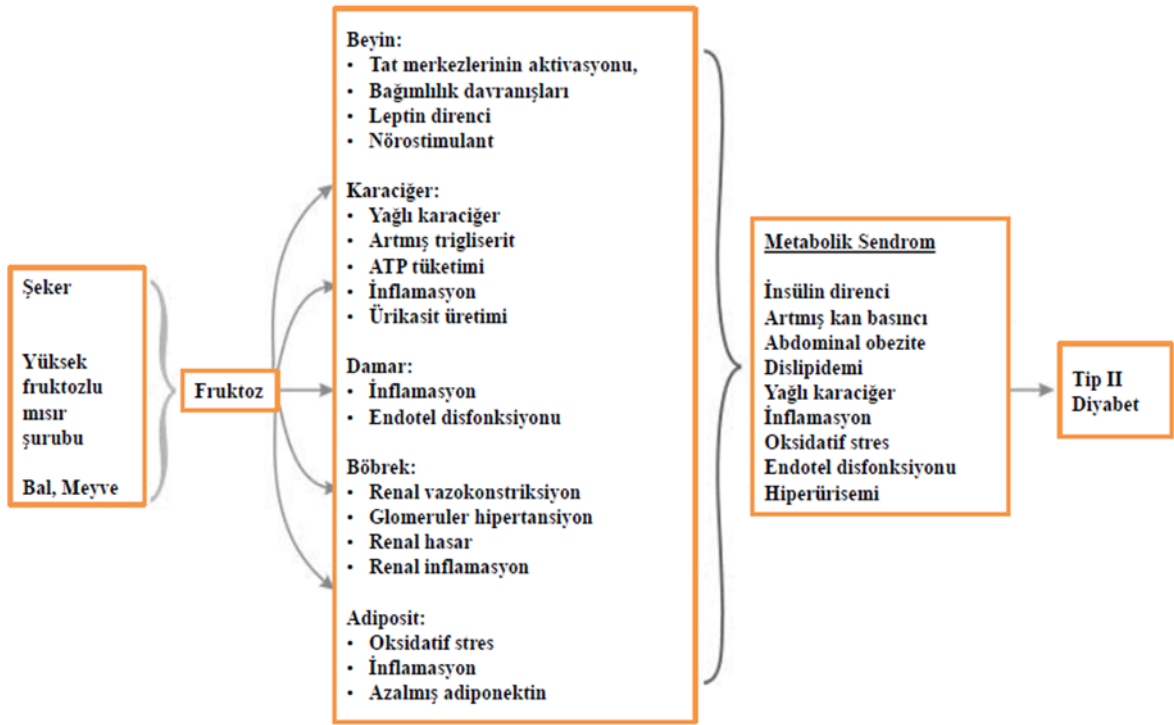
**UDF:** Uluslararası diyabet federasyonu

**VKİ:** Vücut kitle indeksi

### **Sıçanlarda Metabolik Sendrom Modeli Olarak Fruktozla Beslenme**

Günümüzde yüksek fruktozlu mısır şurubu kaynaklı fruktoz tüketimi önemli ölçüde artmıştır. Yüksek fruktozlu mısır şurubu karbonatlı içecekler ve diğer şekerli içecekler, unlu mamüller, şekerler, konserve meyveler, reçeller, jeller ve süt ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İşlenmiş gıda üreticileri çoğu zaman yüksek fruktozlu mısır şurubunu sakkarozaya tercih etmektedirler. Fruktozun metabolizma üzerinde potansiyel birçok zararlı

etkileri vardır. Yüksek oranda tüketimi metabolik sendromun başlıca sebebi sayılmaktadır. Fruktöz özellikle toksik gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumunu teşvik eden güçlü bir indirgeyici şekerdir ve diyabetin vasküler, renal ve oküler komplikasyonlarının patogenezinde ve ateroskleroz gelişiminde etkin rol almaktadır (62). Yüksek miktarda fruktoz tüketiminin birçok organ ve sistemi olumsuz etkilediği bilinmektedir. Bu etkilerden bazıları Şekil 5'te gösterilmiştir (63).



**Şekil 5. Yüksek fruktoz tüketiminin organlar üzerindeki bazı olumsuz etkileri (63)**

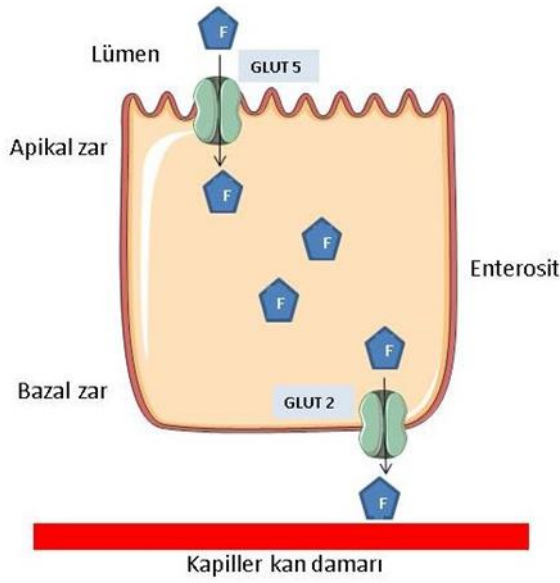
Fruktözden zengin beslenmenin çeşitli etkileri sıçanlar üzerinde oluşturulan deneysel metabolik sendrom modelleri üzerinde çalışılmaktadır (64). 1950'lerde yapılan çalışmalardan başlayarak, yüksek sükröz içerikli diyetlerin hızla hiperglisemi, insülin direnci, hiperlipidemi, hipertansiyon, kilo alımı ve hiperürisemiye tetikleyerek sıçanlarda metabolik sendromu başlatabileceği kabul edilmektedir (65,66). Diğer taraftan Bruckdorfer ve ark., 1973 yılında bu metabolik değişikliklerin fruktoz içeriğine bağlı olduğunu göstermiştir (67). Sıçanların eşdeğer miktarda fruktoz veya glikoz ile beslendiklerinde, toplam enerji alımının aynı olması ve vücut ağırlığı değişiminin eşdeğer olmasıyla birlikte, sadece fruktoz ile beslenen sıçanların metabolik sendrom (hipertrigliseridemi, hiperürisemi ve hiperinsülinemi) özellikleri gösterdiği belirtilmiştir (68,69). Shapiro ve ark., 2008 yılında yaptıkları çalışmada sıçanları 6

ay boyunca fruktoz veya nişasta bazlı diyetle beslenmişlerdir. Gruplar arasında kilo alımında bir fark olmamasına rağmen, fruktoz ile beslenen sıçanlarda, nişasta ile beslenen sıçanlarda gözlenmeyen leptin direnci geliştiğini rapor etmişlerdir (70). Bu, obeziteyi tetiklemesi açısından fruktoz ve yüksek yağ içeren diyet arasındaki etkileşimi göstermektedir. Ayrıca Tayfur ve ark., 2019 yılında yaptıkları çalışmada sıçanların içme sularına % 10 oranında fruktoz eklediklerinde fruktozun metabolik sendromun belirleyici bileşenlerinden olan insülin direnci, dislipidemi, total kolesterol ve glikoz gibi parametrelerde anlamlı farklılık oluşturmada yeterli bir doz olmadığını belirtmişlerdir (71). Bu durum her fruktozdan zengin diyetin metabolik sendrom modeli oluşumunda yeterli olamayabileceğini de göstermektedir.

### **FRUKTOZ METABOLİZMASI**

Fruktoz doğada bazı ağaç meyvelerinde, balda, kavun ve karpuz gibi meyvelerde bulunmaktadır. Bunun yanında fruktozun asitli içecekler, çikolata, hazır kek, mısır şurubu kaynaklı tatlandırıcılar ve şekerlemeler gibi birçok hazır gıdada bulunduğu da bilinmektedir. Günümüzde insanlar, diğer karbonhidratlara göre daha ucuz olması ve tüketiminin iştahı belirgin şekilde artırması nedeniyle yaygın olarak fruktozdan zengin beslenmektedirler. Ancak fruktozdan zengin beslenme beraberinde metabolik sendrom görülme sıklığında artışa sebep olmaktadır (72). Yüksek fruktozlu mısır şurubu veya sükroz gibi ilave şekerler halinde fruktoz tüketimi son 30 yılda belirgin bir şekilde artmıştır (73). Yüksek fruktoz tüketiminin hepatik ve periferik insülin direncine neden olduğu bilinmektedir (74). Fruktozdan zengin beslenme sıçanlarda; hipertansiyon, hiperinsülinemi, insülin direnci, hipertrigliseridemi, hepatik VLDL'nin aşırı üretimi, obezite ve hiperglisemiye neden olmaktadır (75-78).

Fruktoz, glikoz taşıyıcı protein (GLUT) ailesinin bir üyesi olan GLUT5 tarafından hücre içine alınır (4). GLUT5, ince bağırsağın, renal proksimal tübülün ve ayrıca testisin epitel hücrelerinde önemli ölçüde eksprese edilmektedir (79). Fruktoz, jejunumdaki GLUT5 glikoz taşıyıcıları tarafından emilir ve daha sonra portal dolaşım yoluyla karaciğere geçer ve burada hepatositlerde GLUT2 taşıyıcıları tarafından alınır ve metabolize edilir (80). GLUT5, fruktozun vücudumuza girişini düzenlemede hayati bir rol oynar. Aşırı fruktoz tüketiminin neden olduğu olumsuz sonuçlar fruktozun sistemik dolaşım yoluyla organ sistemlerine ulaşması ve normal işlevlerini bozduğunda ortaya çıkar (81). Fruktozun ince barsak lümeni apikal zarından enterosit içerisine girişi ve kapiller kan damarına geçişi Şekil 6'da şematize edilmiştir (82,83).



Şekil 6. Fruktozun (F) enterosite girişi ve kapiller kana geçişi (82,83)

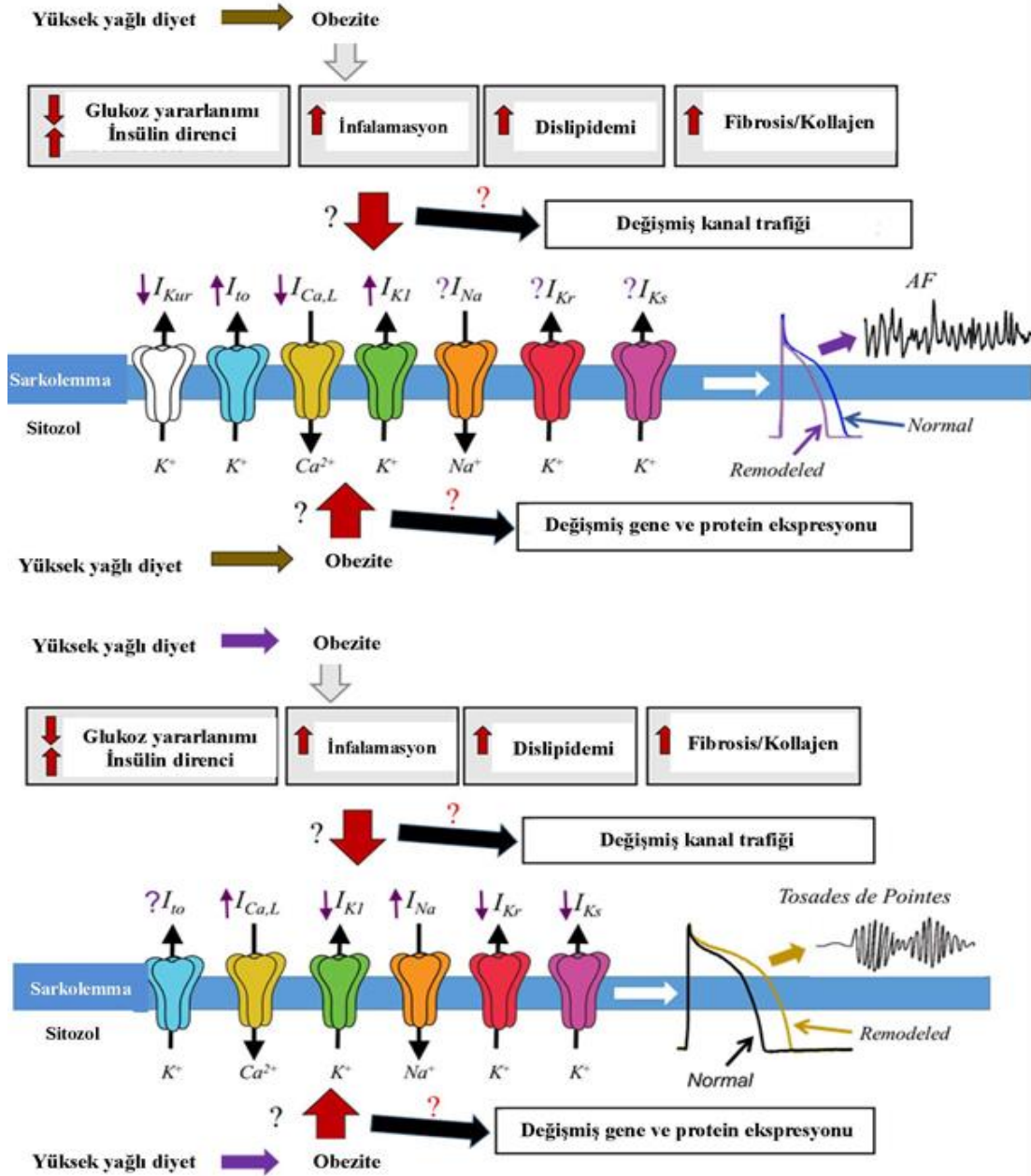
## METABOLİK SENDROM VE KARDİYOVASKÜLER ETKİLERİ

Metabolik sendromun neden olduğu birçok kardiyak anormallik bulunmaktadır. Bunlar arasında artmış sol ventrikül duvar kalınlığı, sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu ve ateroskleroz en sık karşılaşılanlar arasındadır (6,7,84). Bunların dışında metabolik sendromla birlikte kalpte süresi uzamış veya kısalmış ventriküler repolarizasyon, atriyal fibrilasyon, supraventriküler ya da ventriküler aritmiler oluşabileceği de bildirilmiştir (4).

Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar açısından birçok risk faktörü içermektedir. Tanımı için belirlenen beş klasik risk faktörünün dışında, metabolik sendromlu bireylerde inflamasyona ve tromboza da eğilim vardır. Metabolik sendroma neden olan en önemli patogenetik mekanizmaların başında gelen insülin direnci gelmektedir (85).

Obezite ve metabolik sendroma yol açan metabolik düzensizlik, artık neredeyse bir salgın olarak adlandırılan önemli bir halk sağlığı problemidir. Dünya nüfusunun neredeyse üçte birinden fazlasının aşırı kilolu veya obez olduğu düşünüldüğünde bu kişilerde görülebilecek olan kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölümler de yadsınamaz bir gerçektir. Metabolik sendromda mevcut kardiyak terapötik seçenekler sınırlıdır. Bu durum bu hastalarda kardiyak ritmi normalleştirmeye yardımcı olacak yeni etki mekanizmaları ile terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için önemli bir araştırma alanı olduğunu göstermektedir (4). Obezite atriyal fibrilasyon görülme sıklığına önemli ölçüde katkıda bulunur ve popülasyon tabanlı kohort çalışmalarına göre, obez bireylerde obez olmayan bireylere kıyasla atriyal fibrilasyon gelişme riski % 49 oranında daha fazladır (86). Obeziteyle birlikte birçok metabolik sendrom

parametresinin bir arada görüldüğü durumlarda bazı önemli kardiyak iyon kanallarının aktivitelerinin nasıl değiştiği tam olarak bilinmemektedir. Bu durum Şekil 7’de özetlenmiştir (4).



Şekil 7. Obeziteye bağlı kardiyak iyon kanalı aktivite değişimleri (4)

## **MELATONİN SALGILANMASI VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) 232.283 g/mol moleküler ağırlığı olan ve başlıca iki temel özelliğe sahip bir hormondur. Su ve lipitte neredeyse eşit olarak dağılabilmesi ve böylece organizmanın tüm bölümlerinde bulunabilme özelliği ile güçlü antioksidan kapasiteye sahiptir. Böylelikle neredeyse tüm oksijen ve azot reaktif türlerini etkili bir şekilde temizleme özelliği bulunmaktadır (87-89). Melatoninin kandaki ortalama seviyesi 60-70 pg/ml'dir ve normal koşullarda gece salgılandığı bilinmektedir. Plazmada ölçülen maksimum melatonin seviyesine gece saat 02:00 ile 04:00 arasında ulaşılmaktadır. Salgısının gece 21:00-22:00 saatleri arasında artmaya başladığı ve 07:00-09:00 saatleri arasında ise neredeyse sonlandığı belirtilmektedir (89).

### **Melatonin Reseptörleri**

Melatoninin üç farklı reseptörü olduğu bilinmektedir. Bunlardan etkin role sahip olduğu bilinen reseptörler melatonin membran reseptörleri olan ve memelilerde, MT1 (insanlarda MTNR1A) ve MT2 (insanlarda MTNR1B) olarak adlandırılan melatonin reseptörleridir. Bu membran melatonin reseptörleri, adenilil siklaz, fosfolipaz A2 ve fosfolipaz C gibi efektörler ile etkileşime giren ve genellikle cAMP ve cGMP üretimini azaltan ve/veya diasilgliserol ve inositol 3-fosfat oluşumunu arttıran heterotrimerik Gi/Go ve Gq/11 protein-bağlı reseptörlerdir (90). MT1 reseptörü 350 amino asit uzunluğundadır ve Gi'ye, özellikle Gia2, Gia3 ve Gq/11'e bağlıdır. MT1 reseptörleri beyin, kardiyovasküler sistem (periferik kan damarları, aort ve kalp dahil), bağışıklık sistemi, testisler, yumurtalık, cilt, karaciğer, böbrek, adrenal korteks, plasenta, meme, retina, pankreas ve dalakta eksprese edilir (91-93). MT2 reseptörünü kodlayan gen, iki ekson ve bir intron bölgesi içermektedir ve 363 amino asitten oluşmaktadır (94). MT2 reseptörü aynı zamanda bir G-proteini bağımlı reseptördür. Gi'nin aktivasyonu ile ilişkilidir. MT2, bağışıklık sistemi, beyin (hipotalamus, suprakiazmatik nükleus), retina, hipofiz, kan damarları, testisler, böbrek, gastrointestinal sistem, meme bezleri, yağ dokusu ve ciltte bulunur (91,95,96). Melatoninin hücrede üç farklı yerde reseptörü bulunduğu ve buralara bağlanarak etki gösterdiği bilinmektedir. Bunlar hücre zarı, sitoplazması ve çekirdeğidir. Bu reseptörlerden MT1 ile MT2 reseptörleri hücrenin zarında yer almakta olup G proteini aracılı etki mekanizmasına sahiptir (97,98).

Melatonin reseptörlerinin eksprese olduğu dokular ve sistemler ile buldukları yerlerdeki görevlerine ilişkin bilgiler Tablo 2'de kısaca verilmiştir (96).

**Tablo 2. Melatonin reseptörleri ve buldukları yerlerdeki görevleri (96)**

<b>Eksprese olduğu yer</b>	<b>Eksprese olan melatonin reseptörü</b>	<b>Eksprese olduğu yerdeki görevi</b>
SKN	MT2	Sirkadiyen ritmin düzenlenmesi
Retina	MT2	Dopamin salınımının azalması
Damar	MT1, MT2	MT1: Vazokonstrüktör MT2: Vazodilatatör
İmmün Sistem	MT1, MT2	Lökotrien inhibisyonu İmmün hücre proliferasyonu IL2 ve IL6 üretimi
Üreme Sistemi	MT1, MT2	GnRH, FSH ve LH salınımının azalması
Pankreas	MT1, MT2	İnsülin salınımının azalması
Deri	MT1, MT2	Saç büyümesi ve epidermis fonksiyonunun düzenlenmesi
GİS	MT1, MT2	Gastrik kasılmaların azalması Bikarbonat ve kolesistokinin salınımının artması
Kemik	MT1	Osteoblastik aktivitenin artması
Böbrek	MT1, MT2	Glomeruler filtrasyonun düzenlenmesi
Plasenta	MT1, MT2	Radikal temizleyici Apoptozun azaltılması
Uterus	MT1, MT2	Miyometriyal kasılabilirlik
Endometrium	MT1, MT2	Erken gebelikte trofoblast invazyonu

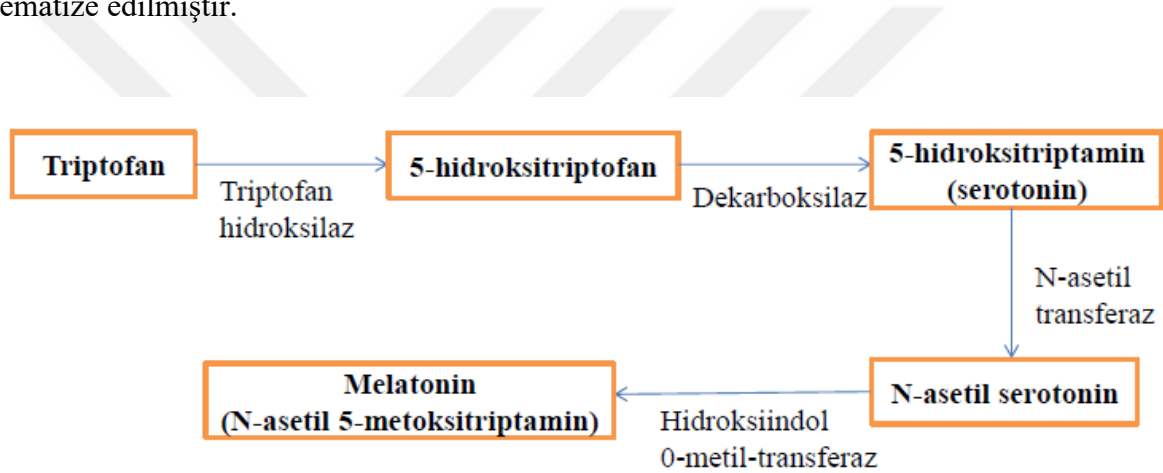
**SKN:** Suprakiazmatik nükleus, **GİS:** Gastrointestinal sistem

Bazıları Tablo 2’de belirtilmiş olan yerlerin dışında melatonin reseptörlerinin kardiyovasküler sistemde de eksprese olduğu bilinmektedir. Bu nedenle birçok kalp damar sistemi hastalığında melatoninin ve melatonin agonistlerinin etkisi çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Klinikte ve deneysel sahada melatoninin ve bazı agonistlerinin etkilerinin çalışıldığı birçok kardiyovasküler sistem hastalığı bulunmaktadır. Bunlar arasında miyokard enfarktüsü, EKG’de ST yükselmesi, koroner arter bypass’ı, abdominal aortik anevrizma

tamiri, postural taşikardi sendromu, kan koagülasyon aktivitesi, akut koroner sendromu, koroner arter hastalığı, kardiyak aritmi, kalp yetmezliği ve hipertansiyon yer almaktadır (11). Belirtilen tüm bu kardiyovasküler hastalıklarda da görüldüğü üzere melatonin ve agonistlerinin kalp-damar sistemindeki olumlu etkileri sahip olduğu görülmektedir.

### Melatonin Sentezi ve Metabolizması

Pineal bezdeki pinealositler tarafından sentezlenen melatonin, omuriliğin ilk torasik segmentlerinin preganglionik sempatik nöronlarına doğrudan ve dolaylı olarak projeksiyon yapan hipotalamik paraventriküler çekirdeklerden köken alan nöral sistemin kontrolü altındadır (88). Triptofan tarafından başlatılan melatonin sentezinin basamakları Şekil 8’de şematize edilmiştir.



Şekil 8. Melatonin sentez basamakları

Melatonin sentezindeki ana kontrol sirkadiyen sistemle gerçekleşmektedir. Burada esas işlev hipotalamik suprakiazmatik çekirdekler üzerinden gerçekleşmektedir. Bu da melatonin sentezinin her zaman aydınlık/karanlık döngüsüyle senkronize olarak gerçekleştiğini göstermektedir. Pineal bez yüksek oranda vaskülarizedir ve üçüncü ventrikül duvarına dorsal ve posterior olarak bağlanması, melatoninin gece boyunca merkezi sinir sisteminin beyin omurilik sıvısına ve kan akışına salınmasına izin vermektedir. Melatonin kanda genellikle albümine bağlanmaktadır. Sitokrom P450 izoformları (esas olarak CYP1A2) ile 6-hidroksimelatonine metabolize edilir ve idrarla atılımı için karaciğerde 6-sülfatoksimeletonine konjuge edilir (99).

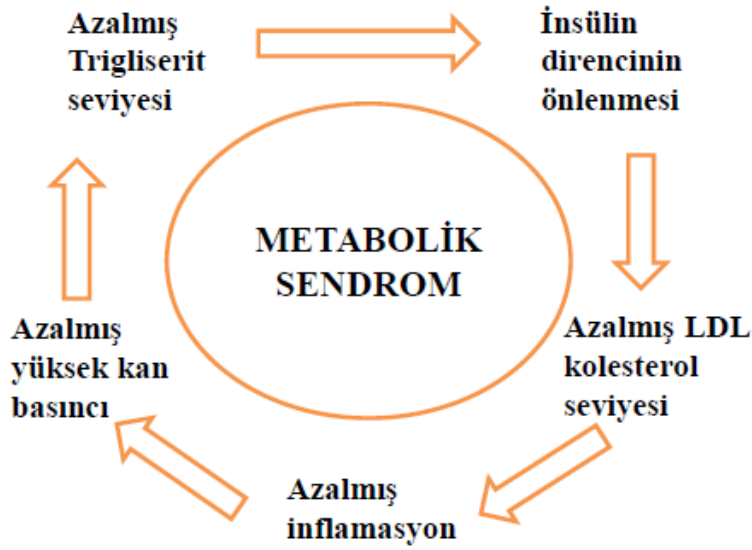


## **MELATONİN, SİRKADYEN RİTİM VE METABOLİK SENDROM İLİŞKİSİ**

Metabolik sendromun dünya çapındaki prevalansının ana nedeninin fazla gıda tüketimi olduğu bilinen bir gerçektir. Buna ek olarak artık birçok modern toplumda gün boyu her saatte aktif olunabilecek bir yaşam tarzı gelişmiştir. Fakat bilinmektedir ki bu durum insan fiziolojisine uyumlu bir yaşam tarzı değildir. Bundan yaklaşık 40 yıl öncesine göre birçok modern toplumun uyku süresinin yaklaşık % 25 oranında daha az olduğu ve bunun sonucu olarak yeterli ve gerekli süreye sahip bir uykudan mahrum olarak yaşadığımız rapor edilmektedir. Öte yandan yetişkinlerin yaklaşık % 30' unun gecelik uykusunun yaklaşık 6 saat düzeyinde olduğu bildirilmektedir (100).

Sirkadiyen ritimdeki bozulmalar beraberinde obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklara yakalanma açısından artmış risk anlamına gelmektedir (101). Fazla beslenme gibi yaşam tarzı değişikliklerini uyku/uyanıklık döngüsünün bozulması izlemektedir (102). Bu durum beraberinde otonom sinir sistemi fonksiyonunun dengesini torasik bölge ve kaslarda sempatik aktivitenin baskın olması yönünde bozmakta ve intra-abdominal bölgede parasempatik dalın baskın olması sonucunu doğurmaktadır. Tüm bunların sonucu olarak yüksek tansiyon, kaslarda bozulmuş glikoz alımı, yüksek insülin sekresyonu, karın içi yağlanmada artış ve diğer yandan yağlı bir karaciğer tablosu karşımıza çıkmaktadır (103).

Melatoninin obezite, tip 2 diyabet ve karaciğer steatozunu azaltma yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir (104). Pinealektomi operasyonu ile dolaşımdaki melatoninin kaybı belirgin hiperinsülinemi ve karaciğerde trigliserit birikimi ile sonuçlanmaktadır. Melatoninin uzun süreli uygulanmasının ise restore edilmiş insülin direnci ile tip 2 diyabetik sıçanlarda lipit metabolizmasında düzelmeye yol açtığı bildirilmiştir (105). Melatonin uygulaması sadece diyabetik sıçanlarda hipoglisemik bir etki yapmakla kalmamış aynı zamanda da kardiyovasküler hastalıklarda da iyileşmeye yönelik olumlu sonuçlar vermiştir (106,107). Melatonin tedavisinin izole edilmiş sıçan kalbinde oluşturulan deneysel iskeminin neden olduğu aritmileri azalttığı ve miyokard enfarktüsünün erken evresinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (108,109). Bunun yanında melatonin plazma glikozu, leptin ve trigliserit düzeylerini düşürücü etkiye sahiptir (110). Tüm bu bilgiler ışığında melatoninin metabolik sendrom üzerindeki olumlu etkilerini Şekil 9'da gösterildiği gibi özetleyebiliriz (59).



**Şekil 9. Melatoninin metabolik sendrom üzerine olumlu etkileri (59)**

### **Melatoninin Metabolik Sendrom ve Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri**

Kardiyovasküler hastalıkların dünya çapında ölümün ana nedenlerinden biri olduğu düşünüldüğünde, bu hastalıkların oluşumunu ve gelişimini azaltmak için önleyici tedbirler de büyük öneme sahiptir (111). Melatoninin etkinliği ise kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde giderek daha fazla araştırılmaktadır. Melatonin reseptörlerinin kardiyovasküler sistemdeki varlığı tanımlanmıştır ve miyokardiyal enfarktüs, koroner kalp hastalığı, konjestif kalp yetmezliği ve nokturnal hipertansiyon dahil olmak üzere çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda melatonin ve melatoninin idrardaki başlıca metaboliti olan 6-sülfatoksimeleatonin seviyelerinin azaldığı da bildirilmiştir (112,113).

Metabolik sendrom bileşenleri arasında obezite, diyabet, dislipidemi, hiperglisemi ve hipertansiyon gelmektedir. Diyabet (diyabetes mellitus), hiperglisemi, bozulmuş insülin sekresyonu ve insülin direnci ile karakterizedir. Ayrıca diyabet, kardiyovasküler hastalıkların gelişimi için de çok büyük bir risk faktörüdür. Diyabetik hastalarda hayati kardiyovasküler bozuklukların görülme riski diyabetik olmayan kişilere göre 2-3 kat daha yüksektir (114). Diyabetik hastalarda melatonin düzeyleri sağlıklı insanlardan daha düşüktür ve bu durum insülin ile melatonin arasında bir etkileşim olduğunu göstermektedir (115). Melatoninin, melatonin reseptörlerine doğrudan bağlanarak kan şekeri seviyelerini ve adipositlerde glikoz alımını düzenleyen *glikoz uptake transporter* ekspresyonunu etkilediği bildirilmiştir (116). Yüksek LDL kolesterol düzeyleri tespit edilen bireylerde melatonin seviyesinde düşme olduğu bildirilmiştir (92). Ayrıca melatonin uygulamasının dislipidemiye iyileştirebileceğini gösteren deneysel çalışmalar da mevcuttur (117-119). Obezite, hipertansiyon, iskemik kalp

hastalığı gibi kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet için önemli bir risk faktörüdür. Melatoninin ise farklı hayvan ve insan çalışmalarında obeziteye karşı etkin düzeltici role sahip olduğu gösterilmiştir (120,121). Melatonin takviyesiyle vücut ağırlığının ve karın içi viseral yağ birikiminin azaldığı bildirilmiştir. Bu obeziteyi azaltıcı etkinin melatoninin enerji dengesi ve düzenlenmesi üzerindeki düzenleyici rolünden kaynaklandığı rapor edilmiştir (122). Melatoninin güçlü antihipertansif etkiye sahip olduğu ve olası bir antihipertansif ajan olarak kullanılabilmesine dair verilerin olduğu da bilinmektedir (123,124). Yapılan çalışmalar düşük melatonin üretiminin, koroner kalp hastalığı, sol ventrikül hipertrofisi, enfarktüs ve konjestif kalp ile ilişkili olduğunu göstermektedir (125,126). Ekzojen melatonin uygulaması, iskemi-reperfüzyon hasarı, diyabetik kardiyomyopati, kalp yetmezliği ve artmış kalp atım hızı dahil olmak üzere farklı kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahiptir (127-130).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda toplam 32 adet, Sprague Dawley ırkı erişkin, 200±20 g ağırlığında dişi sıçan kullanıldı. Sıçanların standart pelet yem ile *ad libitum* beslenmeleri sağlandı. Çalışmada reverz ozmoz sisteminden geçirilmiş içme suyu kullanıldı. Çalışmamız Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2019.01.01 nolu onay kararı sonrası Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde standart laboratuvar koşullarında (22±1 °C ısı, % 50-60 nem oranı) yapıldı.

### Çalışma Grupları

Sıçanlar her grupta 8 adet olacak şekilde 4 farklı gruba ayrıldı. Deney öncesi tüm sıçanlar tartıldı ve vücut ağırlıklarına göre tüm gruplara homojen bir şekilde dağıtıldı. Deneysel süreç olan 8 hafta boyunca tüm sıçanların kontrolleri ve yapılması planlanan uygulamalar düzenli olarak yapıldı.

Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu;

**Kontrol (K) Grubu (n=8):** Standart diyet + içme suyu ile beslendi. Bu gruptaki tüm sıçanlara son iki hafta boyunca melatoninini çözdürmek için kullanılan % 0,1 etanol + distile su (*vehicle*), oral gavaj yoluyla sabah 09:00-10:00 saatleri arasında verildi.

**Kontrol + Melatonin (MEL) Grubu (n=8):** Bu gruptaki sıçanlar standart diyet + içme suyu ile beslendi. Beslenme sürecinin son iki haftasında, günlük taze olarak hazırlanan melatonin (20 mg/kg/gün) oral gavaj yoluyla, sabah 09:00-10:00 saatleri arasında verildi.

**Metabolik Sendrom (MS) Grubu (n=8):** Bu gruptaki sıçanlar standart diyet + içme suyuna fruktoz (200 g/L) eklenerek 8 hafta boyunca beslendi. Fruktoz her gün taze olarak hazırlandı. Tüm sıçanlara melatonini çözdürmek için kullanılan % 0,1 etanol + distile su (*vehicle*) son iki hafta boyunca sabah 09:00-10:00 saatleri arasında oral gavaj yoluyla verildi.

**Metabolik Sendrom + Melatonin (MS+MEL) Grubu (n=8):** Bu gruptaki sıçanlar standart diyet + içme suyuna fruktoz (200 g/L) eklenerek 8 hafta boyunca beslendi. Fruktoz her gün taze olarak hazırlandı. Beslenme sürecinin son iki haftasında sıçanlara günlük taze olarak hazırlanan melatonin (20 mg/kg/gün) oral gavaj yoluyla sabah 09:00-10:00 saatleri arasında verildi.

Çalışma grupları Tablo 3' de özetlenmiştir.

**Tablo 3. Çalışma grupları**

Grup Adı	Sıçan Sayısı	8 haftalık deneysel süreç	
		İlk 6 hafta	Son 2 hafta
K	8	Standart diyet + içme suyu	Standart diyet + içme suyu ve <i>vehicle</i>
MEL	8	Standart diyet + içme suyu	Standart diyet + içme suyu ve Melatonin (20 mg/kg/gün, oral gavaj)
MS	8	Standart diyet + içme suyu (Fruktoz 200 g/L)	Standart diyet + içme suyu (Fruktoz 200 g/L) ve <i>vehicle</i>
MS+MEL	8	Standart diyet + içme suyu (Fruktoz 200 g/L)	Standart diyet + içme suyu (Fruktoz 200 g/L) ve Melatonin (20 mg/kg/gün, oral gavaj)

### Metabolik Sendrom Modelinin Oluşturulması

MS ve MS+MEL gruplarında bulunan toplam 16 adet sıçanın içme sularına 200 g/L dozunda, günlük taze olarak hazırlanan D-fruktoz (Sigma-Aldrich, KatNo: F0127-5KG) eklendi (131). Fruktoz eklenen su metabolik sendrom modeli oluşturulacak olan tüm sıçanların kafeslerindeki içme sularının bulunduğu bölüme yerleştirildi. Sıçanların günlük su tüketimleri göz önünde bulundurularak, içme suları günlük kontrol edildi.

### **Melatonin Uygulanması**

MEL ve MS+MEL grubundaki sıçanlara 8 haftalık beslenme süresinin son iki haftasında her gün taze olarak hazırlanan melatonin (% 0.1 etanol ve distile suda çözdürüldü) 20 mg/kg/gün dozunda oral gavaj yoluyla sabah 09:00-10:00 saatleri arasında verildi (132). Oral gavaj ile melatonin uygulaması sırasında, herhangi bir aspirasyon olmamasına dikkat edildi. Gavaj sonrası ilk birkaç dakika sıçanların takibi yapıldı.

### **Kan Basıncının Ölçülmesi**

Metabolik sendromun en önemli belirteçleri arasında yer alan kan basıncı ve kalp atım hızındaki değişimin belirlenmesi amacıyla tüm sıçanların sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve kalp atım hızı ölçümleri kuyruk arterinden (*tail-cuff* pletismografi yöntemiyle) yapıldı. Kan basıncı ölçümleri çalışmanın ilk günü, 6. haftasının ilk günü ve 8. haftasının ilk günü olmak üzere 3 kez düzenli olarak tüm sıçanlarda uygulandı. Tüm ölçümler ve tüm değerlendirmeler her defasında aynı çalışmacı tarafından gerçekleştirildi. Değerlendirme öncesi, kan basıncı ölçümü cihazının (MAY NIBP250, Türkiye) ısıtıcı modülünün 32-34 °C'ye ulaşması için beklendi. Kan basıncı ölçümü herhangi bir anestezi ajanı uygulanmaksızın yapıldı. Sıçanlar kan basıncı ölçümü öncesinde ısıtıcı modül içinde yer alan kısıtlayıcıya yerleştirilerek ortama alışmaları için beklendi. Sonrasında cihazın sensör içeren kaf kısmı sıçanların kuyruklarına takıldı ve 15-20 dakika süresince kuyruk arterinin dilate olması amacıyla beklendi (Şekil 10). Kuyruk dilatasyonunu takiben tüm ölçümler her bir sıçan için 5 kez tekrar edildi ve en büyük ve en küçük değerlerin çıkarılması sonrası kalan 3 değer ortalamarı alındı. Ortalama kan basıncı Tablo 4' de verilen formüle göre hesaplandı.

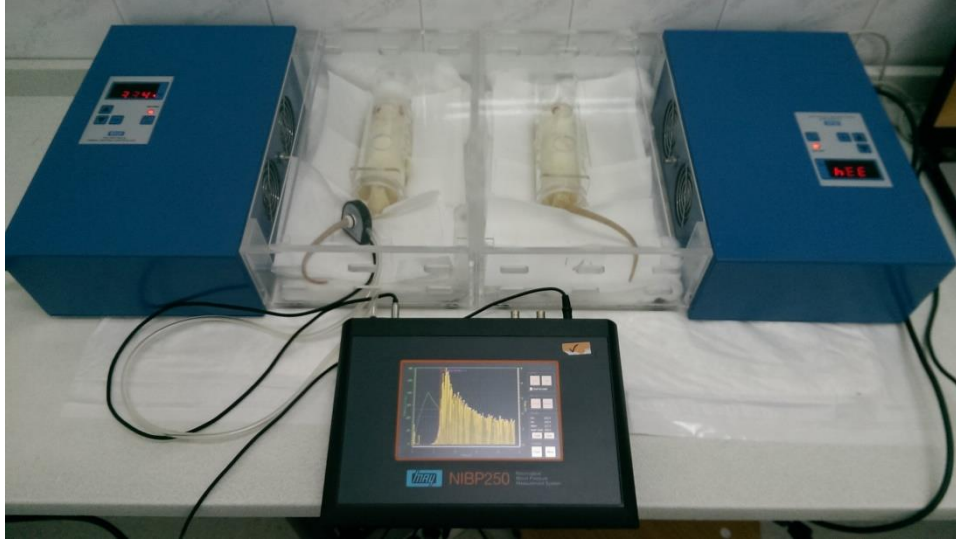
**Tablo 4. Ortalama arteriyel kan basıncı hesaplama formülü**

$$OKB = DKB + (SKB - DKB)/3$$

**OKB:** Ortalama kan basıncı

**SKB:** Sistolik kan basıncı

**DKB:** Diyastolik kan basıncı



**Şekil 10. Kuyruktan *tail-cuff* pletizmografi yöntemiyle kan basıncı ölçümü**

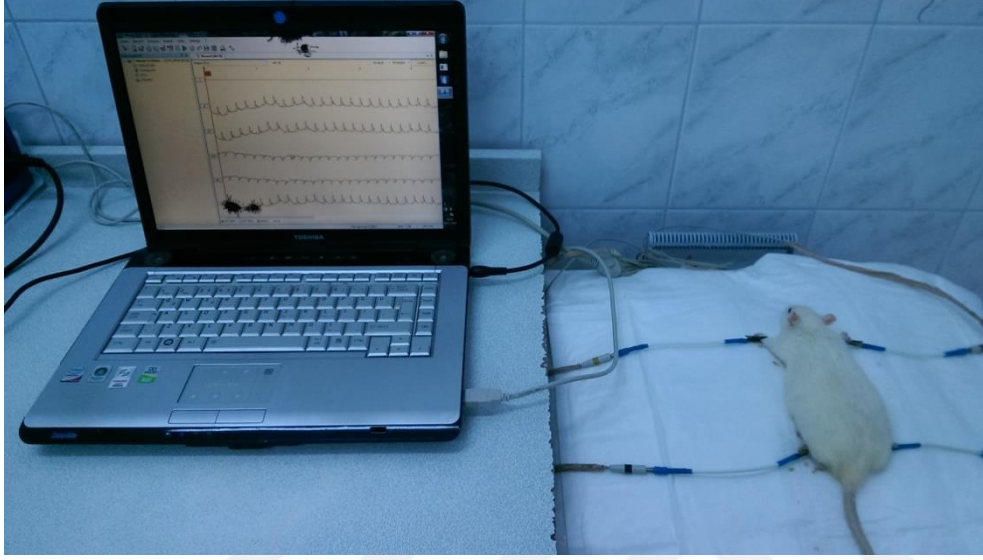
#### **Elektrokardiyografi (EKG) Kaydı Alınması**

Çalışmamızda oluşturduğumuz metabolik sendrom modelinde üzerinde çalıştığımız kardiyak potasyum kanallarının etkileyeceği parametrelerden olan EKG’de RR ve QT süreleri ile ve kalp atım hızının belirlenmesi amacıyla tüm sıçanlarda EKG kayıtları kan basıncı ölçümünün hemen sonrasında bekletilmeden, ekstremiteler derivasyonları kullanılarak çalışmanın ilk günü, 6. haftasının ilk günü ve 8. haftasının ilk günü olmak üzere 3 kez alındı (EKG cihazı: 35 Hz; Poly-Spectrum 12 channel ECG-System, Poly-Spectrum-8, Neurosoft, 5, Voronin str., Ivanovo, Rusya) (Şekil 11). EKG kayıtları yapılmadan 5 dakika önce sıçanlara kas içi yolla sedasyon amaçlı 40 mg/kg ketamin HCl (Ketasol % 10, 0513277AA, İnterhas A.Ş., Ankara) ve 4 mg/kg ksilazin (Xylazinbio % 2, 525120A, İntermed, Ankara) enjeksiyonu yapıldı (133). Her bir EKG kaydından RR ve QT aralığı belirlenerek hesaplamalar yapıldı. Belirlenen QT ve RR değerlerinden milisaniye (msn) düzeyinde

düzeltilmiş QT (QTc) süreleri hesaplandı (134,135). QTc hesaplamalarında aşağıdaki formüller kullanıldı;

QT Bazzett düzeltmesi formülü (QTcB):  $QT \text{ Aralığı} / \sqrt{RR}$

QT Fridericia düzeltmesi formülü (QTcF):  $QT \text{ Aralığı} / \sqrt[3]{RR}$



**Şekil 11. Elektrokardiyografi kaydı alınması**

#### **Kullanılan Cihaz ve Aletler**

Kan basıncı ölçüm cihazı: MAY NIBP250, Türkiye

EKG cihazı: 35 Hz;Poly-Spectrum 12 channel ECG-System, Poly-Spectrum-8, Neurosoft, 5, Voronin str., Ivanovo, Rusya

Derin dondurucu: Thermo Elektron Corporation, ABD

Hassas terazi: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre

Otoanalizör: Abbot Architect c16, ABD

ELISA plaka okuyucu: Bio Tek Instruments, ABD

Homojenizatör: Retsch MM40, Almanya

Spektrometre: Thermo Scientific Nanodrop ND-1000 UV/VIS, ABD

Termal Cyler Cihazı: The Applied Biosystems, Thermal Cyler 2720, ABD

Kantitatif Real-Time PCR Cihazı: The Applied Biosystems, StepOne Real-Time PCR, ABD

Otomatik pipetler: Eppendorf Multipipette/Repeate (Xstream), Almanya

Vorteks: Heidolp, Almanya



### **Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Fruktoz: D-fruktoz, Sigma-Aldrich, Almanya

Melatonin: Melatonin (Toz, M5250-1G), Sigma-Aldrich, Almanya

Ketamin: Ketasol %10, İnterhas, Ankara

Ksilazin: Xylazinbio %2, İntermed, Ankara

İnsülin ELISA kiti: BT LAB Cat. No: E0707Ra, Çin

cDNA sentez kiti: High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, 200 reaction (KatNo: 4368814), ABD

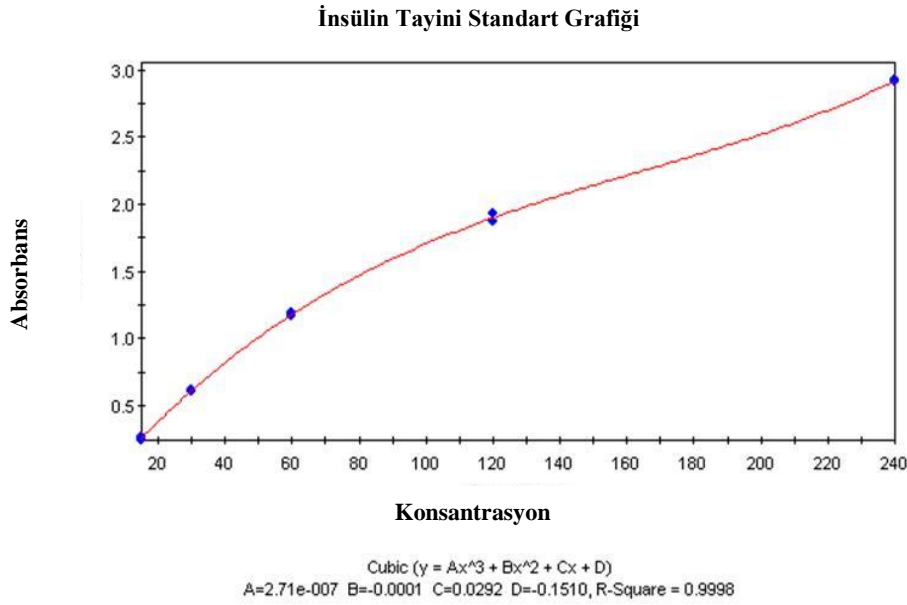
RNA izolasyon kiti: Ambion PureLink RNA MiniKit (Katalog No: 12183018A, Life Technologies, ABD

### **Doku-Kan Örneklerinin Alınması ve Analizler**

Çalışmanın 8. haftasının sonunda altı saatlik açlık sonrası tüm sıçanlardan ketamin 60 mg/kg, (Ketasol % 10, 0513277AA, İnterhas A.Ş., Ankara) ve ksilazin 5 mg/kg, (Xylazinbio % 2, 525120A, İntermed, Ankara) kullanılarak genel anestezi altında intrakardiyak kan alımını takiben kalpler çıkarıldı. Çıkarılan kalplerden sol ventrikül doku örnekleri izole edildi ve bekletilmeden *DNase-RNase free cryogenic* tüplere (RNA kontaminasyonunu engellemek için özel olarak kullanılan tüpler) alınarak belirlenen genlere ait mRNA ekspresyon analizleri yapıncaya kadar -80 °C'deki derin dondurucuya konuldu. Sonrasında tüm doku örneklerinden belirlenen gen bölgelerine ait ekspresyon çalışması kantitatif Real-Time PCR (kantitatif Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi kullanılarak yapıldı (The Applied Biosystems StepOne Real-Time PCR). Alınan kandan elde edilen serumda insülin, glikoz, HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment Index*), trigliserit, total kolesterol, HDL ve LDL düzeyleri belirlendi. İnsülin direncinin değerlendirilmesinde HOMA-IR indeksi kullanıldı. Bu indeksin belirlenmesinde ölçülen insülin ve glikoz düzeylerinden yararlanıldı (HOMA-IR hesaplamak için kullanılan formül: serum insülini (mU/L)\*kan glikozu (mmol/L)/14.5) (136). Çalışmanın sonunda anestezi altındaki sıçanlardan intrakardiyak kandan elde edilen serum örneklerinde glikoz, trigliserit, total kolesterol, HDL ve LDL düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında analiz edildi.

## İnsülin Düzeyinin Belirlenmesi

Sıçanlardan alınan kardiyak kan örneklerinden elde edilen serumda insülin düzeyinin değerlendirilmesinde ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi kullanıldı. Bu maksatla -80°C’de muhafaza edilen serum örnekleri ile ELISA kit (BT LAB Cat. No: E0707Ra) protokolünde belirtildiği şekilde muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Kit içerisindeki standartlar belirlenen kuyucuklara mikropipet kullanılarak 50 µL eklendi. Serum örneklerinin 40 µL pipetlenmelerini takiben üzerlerine 10 µL biotinlenmiş antikor ilave edildi. Ardından kör kuyucuklar hariç her kuyucuğa 50 µL streptavidin-HRP antikorunu eklendi ve nazıççe karıştırılarak etüvde 37 °C’de 60 dk inkübe edildi. Sonrasında otomatik plaka yıkama cihazı (Bio Tek Instruments, ABD) kullanılarak kit protokolünde belirtildiği gibi 5 defa (350 µL) yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkamayı takiben substrat A solüsyonu (50 µL) ve substrat B solüsyonu (50 µL) pipetlenerek karıştırıldı ve 37 °C’de 10 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra her kuyucuğa stop solüsyonu (50 µL) pipetlendi ve reaksiyon durduruldu. ELISA okuyucu cihazında absorban değerleri 450 nm’de belirlendi. Çalışmanın standart regresyon grafiği Şekil 12’de verilmiştir.



**Şekil 12. İnsülin ELISA tayini standart regresyon grafiği**

## Sol Ventrikül Doku Örneklerinde Potasyum İyon Kanallarına Ait Gen Ekspresyonu Analizleri

### RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Elde edilen doku örneklerine ait tüm mRNA ekspresyon analizleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Deneysel sürecin sonunda her bir gruba ait sıçanlarda, ventrikül doku örneklerinden yaklaşık 10 mg alınarak çelik bilyeli homojenizatörde (RETSCH, MM 400) homojenize edildi. Elde edilen homejenatlardan Ambion PureLink RNA MiniKit (Katalog No: 12183018A, Life Technologies, ABD) kullanılarak manuel yolla total RNA izolasyonu yapıldı. Daha sonra spektrofotometre cihazı (NanoDrop ND-1000 UV/VIS Spectrophotometer) ile RNA konsantrasyonları ve saflıkları ölçülerek örneklerin konsantrasyonları eşitlendi. Eşitlenen total RNA'lerden kit kullanılarak (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, 200 reaction, ABD) manuel yolla cDNA (komplementer DNA) sentezi Tablo 5' de belirtilen koşullarda *Thermal Cycler* (The Applied Biosystems®, 2720 Thermal Cycler) cihazı kullanılarak yapıldı;

**Tablo 5. cDNA sentez protokolü**

Bileşenler	Örnek Başına Hacim	Sıcaklık	Zaman
10x Buffer	2 µl	25 °C	10 dk
dNTP	0,8 µl	37 °C	120 dk
Random Primer	2 µl	85 °C	5 dk
Enzim	1 µl		
Su	4,2 µl		
RNA	10 µl		
<b>Toplam</b>	<b>20 µl</b>		

Elde edilen cDNA örnekleri daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

### Kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) Çalışmaları

KCNQ1, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5 ve KCNH2 genlerine ait cDNA'lar uygun tagman primer-probe ve Tablo 6'da belirtilen gerekli malzemelerin eklenmesiyle birlikte Real-Time PCR cihazına (The Applied Biosystems, StepOne Real-Time PCR, ABD) yerleştirildi ve uygun koşullar sağlanarak ekspresyon çalışması yapıldı (Tablo 6 ve 7).

Çoğaltma işlemi esnasında elde edilen piklere ait CP (*cycling point*) değerleri gen ekspresyonlarının belirlenmesinde kullanıldı ve  $2^{-\Delta\Delta C_p}$  metodu ile rölatif kat artış değerleri hesaplandı. Ekspresyon değerlerinin normalizasyonu için *house-keeping* gen olarak Actin Beta (ACTB) geni kullanıldı (133).

**Belirtilen gen bölgeleri için tagman primer-problar:**

TaqMan® Gene Expression Assays, 250 rxns Kcnq1..Rn00583376\_m1

TaqMan® Gene Expression Assays, 250 rxns Kcnq3..Rn00580995\_m1

TaqMan® Gene Expression Assays, 250 rxns Kcnq4..Rn01518851\_m1

TaqMan® Gene Expression Assays, 250 rxns Kcnq5..Rn01512013\_m1

TaqMan® Gene Expression Assays, 250 rxns Kcnh2..Rn01442522\_m1

TaqMan® Gene Expression Assays, 250 rxns ACTB..Rn00667869\_m1

**Tablo 6. qRT-PCR malzeme miktarları**

Bileşenler	Örnek Başına Hacim
Tagman Master Mix	5 µl
Primer Probe	0,5 µl
RNAse Free Su	3,5 µl
cDNA	1 µl
<b>Toplam</b>	<b>10 µl</b>

**Tablo 7. qRT-PCR sentez basamakları ve koşulları**

Basamağın Adı	Döngü Sayısı	Süre	Sıcaklık (°C)
<b>Hold</b>	1	2 dk	50
<b>Döngü</b>	40	10 dk	95
		15 dk	95
<b>Döngü</b>		60 sn	60
<b>E</b>	1	Sürekli	4

### **Biyokimyasal Parametreler**

Anestezi altındaki sıçanlardan toraks açılarak yaklaşık 10 ml kadar kan örneği vakumlu tüplere alındı. Kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Sonrasında +4 °C' de 15 dakika boyunca 3000 devir/dk'da santrifüj edilmek üzere santrifüj cihazına (MPW 350R, Polonya) yerleştirildi. Elde edilen serumlardan trigliserit, glikoz, total kolesterol, HDL ve LDL analizleri yapılncaya kadar serumlar 2 ml' lik tüplere alınarak -80°C derin dondurucuya yerleştirildi. Alınan serum örneklerinden yukarıda belirtilen kan parametrelerinin düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan otoanalizör (Abbot Architect c16, Amerika) kullanılarak belirlendi.

### **İstatistiksel Analiz**

Veriler SPSS Paket Program 20.0 sürümü (Lisans No: 10240642) ile analiz edildi. Tanımlayıcı verilerin sunumunda ortalama ve standart sapma kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu değerlendirildi. Normal dağılıma uyan değişkenlerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü ANOVA Testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Anlamlılık saptandığı durumlarda farkın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Genetik analizler kısmında qRT-PCR yönteminde elde edilen CP verileri düzenlendi ve  $2^{-\Delta\Delta C_p}$  formülasyonu sonucu elde edilen rölatif kat değişimi değerleri istatistiksel analizler yapılırken kullanıldı (137).

## **BULGULAR**

Çalışmamızda K, MEL, MS ve MS+MEL olmak üzere 4 farklı grup oluşturuldu. MS ve MS+MEL gruplarındaki sıçanların içme sularına 8 hafta süresince fruktoz eklendi. MEL ve MS+MEL gruplarındaki sıçanlara çalışmanın son iki haftasında her gün oral gavaj yoluyla melatonin verildi. Diğer gruplardaki sıçanlara ise son iki hafta süresince melatonini çözdürmek için kullandığımız solüsyon verildi. Tüm sıçanlar 8 haftalık süreci deneysel prosedüre uygun şekilde tamamladı. Çalışmamızda ilk gün, 6. hafta ve 8. hafta yöntem kısmında belirttiğimiz üzere ölçümler yapıldı. Sekizinci haftanın sonunda tüm sıçanlardan kan ve doku örnekleri toplandı ve analizler kısmına geçildi.

### **Biyokimyasal Parametreler**

Sıçanlardan alınan kan örneklerinde biyokimyasal analizler yapıldı. Gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz sonucu insülin, glikoz, HOMA-IR, total kolesterol, HDL ve LDL değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösterdiği saptandı (Tablo 8). Ancak dört grubun biyokimyasal verilerinin karşılaştırılmasında trigliserit değerlerinde anlamlılığa yakın olmakla birlikte belirgin bir istatistiksel fark saptanmadı.

**Tablo 8. Deney gruplarının biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması**

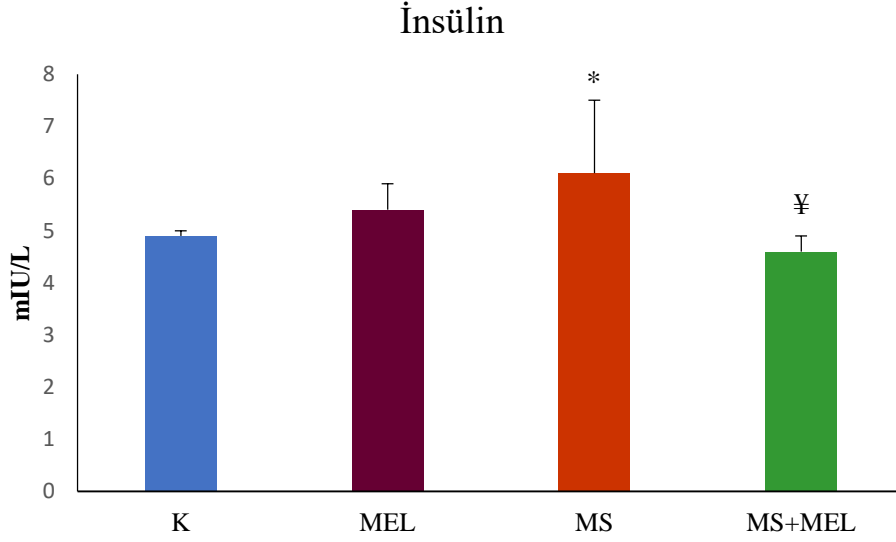
<b>Gruplar</b>	<b>K (n=8)</b>	<b>MEL (n=8)</b>	<b>MS (n=8)</b>	<b>MS+MEL (n=8)</b>	<b>p</b>
<b>İnsülin (mIU/L)</b>	4,9±0,1	5,4±0,5	6,1±1,4	4,6±0,3	<b>0,002</b>
<b>Glikoz (mg/dl)</b>	188,8±38,8	178,8±12,4	259,0±64,5	216,7±39,7	<b>0,019</b>
<b>HOMA-IR</b>	3,68±0,68	3,81±0,37	6,10±1,32	4,01±0,88	<b>&lt;0,001</b>
<b>Trigliserit (mg/dl)</b>	33,8±6,2	36,7±8,2	54,2±19,7	38,2±4,2	0,055
<b>Total Kolesterol (mg/dl)</b>	56,0±11,4	54,7±9,9	79,6±6,6	74,1±3,7	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL (mg/dl)</b>	37,5±6,1	38,7±5,7	51,3±7,4	46,6±5,3	<b>0,001</b>
<b>LDL (mg/dl)</b>	16,8±4,3	18,1±4,3	28,7±2,0	22,0±1,5	<b>&lt;0,001</b>

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

**HDL:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein, **LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein.  
**ort±ss:** ortalama±standart sapma, **p:** Tek Yönlü ANOVA Testi.

## İnsülin

Tüm grupların insülin verileri karşılaştırıldığında MS grubunun insülin değerlerinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı ve MS+MEL grubunda ise MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü (sırasıyla,  $p=0,033$ ,  $p=0,002$ , Şekil 13).



**Şekil 13. Grupların insülin değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

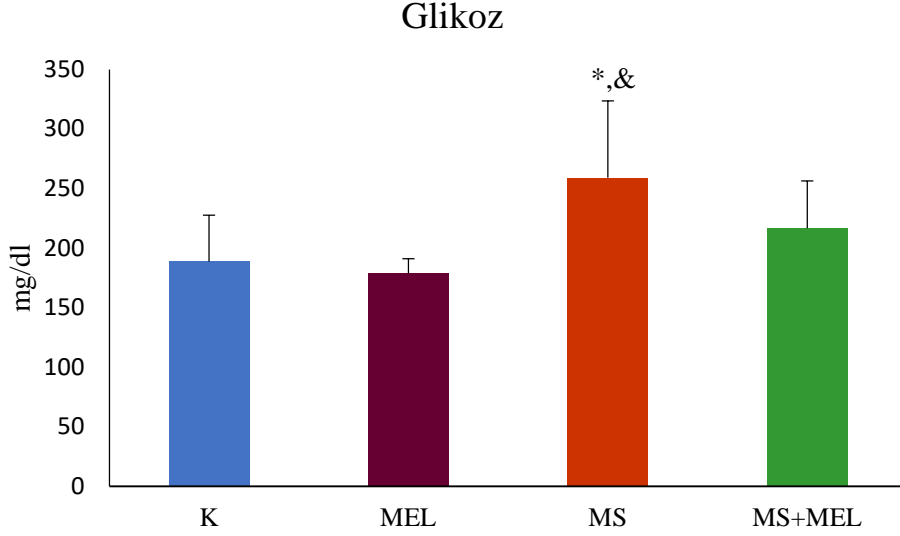
\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p=0,033$ ).

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p=0,002$ ).



## Glikoz

Tüm grupların glikoz verileri karşılaştırıldığında MS grubunun glikoz değerlerinin K grubu ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü (sırasıyla  $p=0,015$ ,  $p=0,005$ , Şekil 14).



**Şekil 14. Grupların glikoz değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

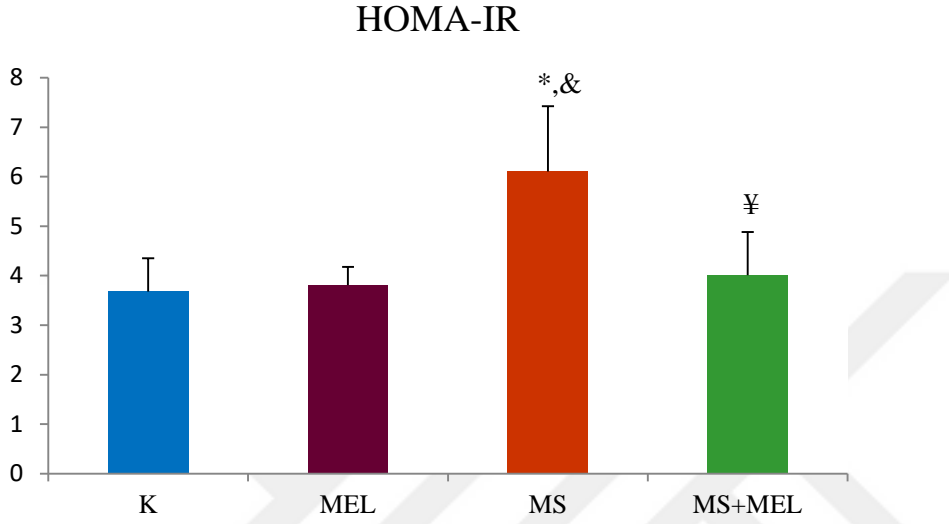
Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

**\*:** K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p=0,015$ ).

**&:** MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p=0,005$ ).

## HOMA-IR

Tüm grupların HOMA-IR verileri karşılaştırıldığında MS grubunun HOMA-IR değerinin K ve MEL gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı ve MS+MEL grubunda MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ( $p<0,001$ , Şekil 15).



**Şekil 15. Grupların HOMA-IR değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin.

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

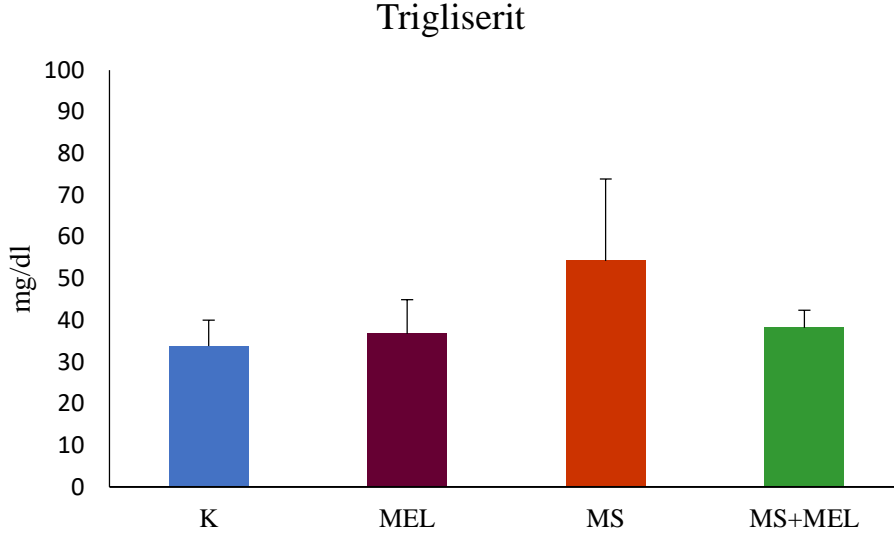
**\*:** K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

**&:** MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

**¥:** MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

## Trigliserit

Tüm grupların trigliserit verileri incelendiğinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ( $p=0,055$ , Şekil 16).



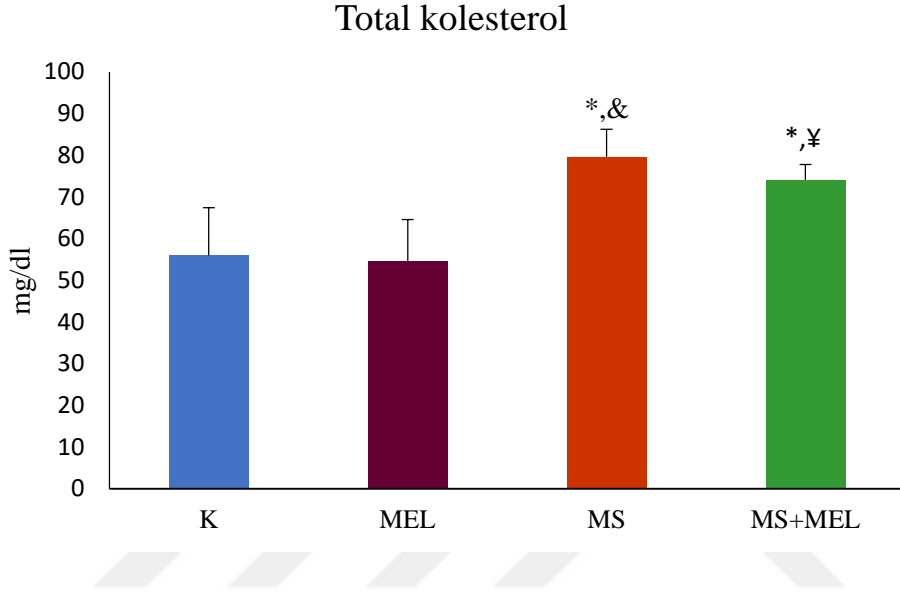
**Şekil 16. Grupların trigliserit değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

## Total Kolesterol

Tüm grupların total kolesterol verileri incelendiğinde MS ve MS+MEL grubunun total kolesterol verisi açısından K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdiği bulundu (sırasıyla  $p=0,002$ ,  $p=0,013$ ). MS grubunun total kolesterol verisinin MEL grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı ( $p<0,001$ ) ve MS+MEL grubu total kolesterol verisinin ise MS grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi ( $p=0,003$ , Şekil 17).



Şekil 17. Grupların total kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

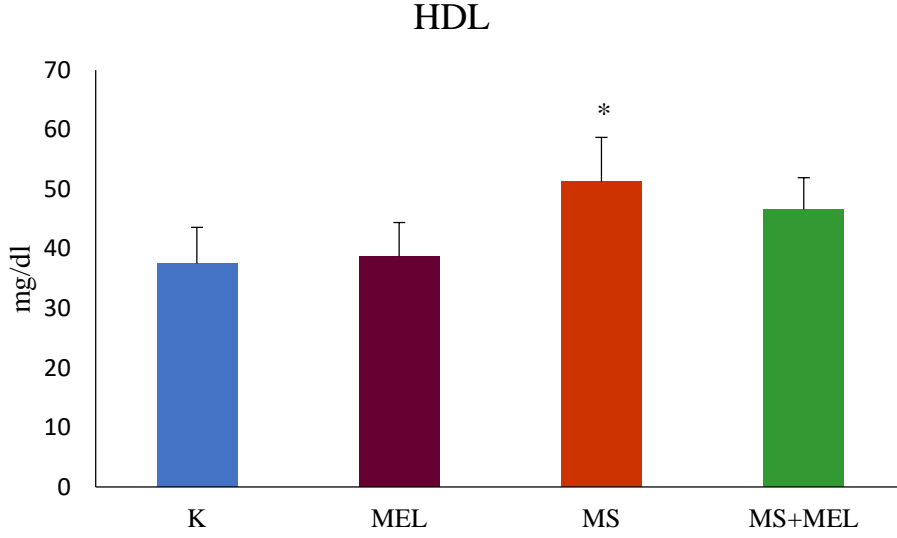
\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p=0,002$ ).

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p=0,003$ ).

### Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)

Tüm grupların HDL verileri incelendiğinde MS grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu belirlendi (p=0,006, Şekil 18).



**Şekil 18. Grupların HDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması**

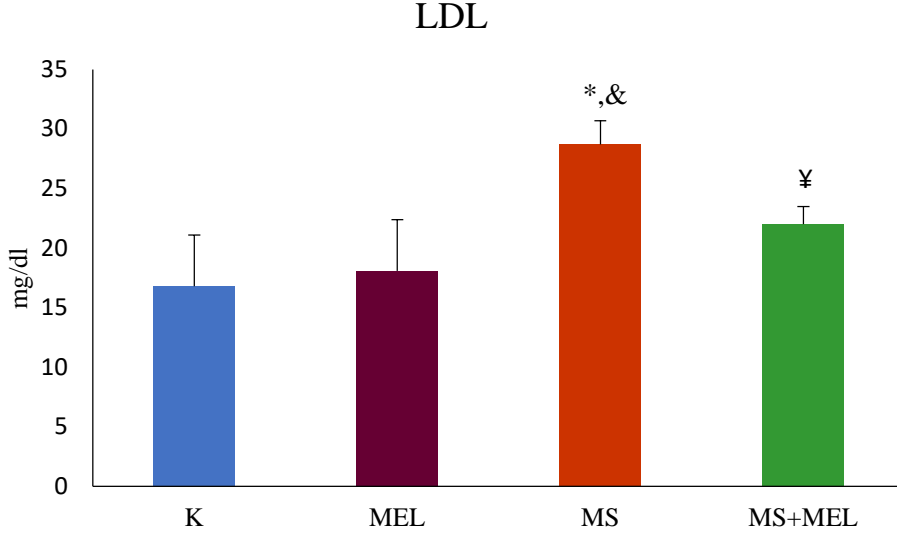
**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık (p=0,006).

### Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL)

Tüm grupların LDL verileri incelendiğinde MS grubunda K grubu ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü ( $p<0,001$ ). MS+MEL grubunda ise MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir ( $p<0,001$ , Şekil 19).



**Şekil 19. Grupların LDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,001$ ).

### Kan Basıncı Verileri

#### Tüm grupların 1. gün kan basıncı verileri

Gruplar arasında 1. gün sistolik kan basıncı verisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p=0,201$ ). Gruplar arasında 1. gün diyastolik kan basıncı verisi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p=0,041$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MEL ve MS+MEL grupları arasında diyastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,041$ ). Ancak elde edilen tüm değerler normal kan diyastolik kan basıncı aralığındaydı. Gruplar arasında 1. gün ortalama arteriyel kan basıncı verisi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,080$ ). Gruplar

arasında 1. gün kalp atımı verisi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,319$ ) (Tablo 9).

**Tablo 9. Deneysel gruplarının hemodinamik parametrelerinin 1. gün karşılaştırılması**

Gruplar	K (n=8)	MEL (n=8)	MS (n=8)	MS+MEL (n=8)	p
<b>Sistolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	123,7±5,9	123,7±6,4	125,5±3,1	128,6±1,5	0,201
<b>Diastolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	99,8±8,6	98,2±7,05	106,5±5,8	107,3±3,2	<b>0,041</b>
<b>Ortalama Arteriyel Kan Basıncı (mmHg)</b>	107,8±7,3	106,7±5,1	112,8±4,8	114,5±2,3	0,080
<b>Kalp Atım Sayısı (dk)</b>	370,0±19,3	383,1±12,1	381,4±18,5	366,1±10,7	0,319

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

**p:** Tek Yönlü ANOVA Testi, ort±ss: ortalama±standart sapma.

### **Tüm grupların 6. hafta kan basıncı verileri**

Gruplar arasında 6. hafta sistolik kan basıncı verileri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı ( $p<0,001$ , Tablo 10). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS ve MS+MEL grubunun sistolik kan basıncı verisinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi (sırasıyla  $p<0,001$ ,  $p=0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS grubunun sistolik kan basıncı verisinin MEL grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi. Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS+MEL grubu sistolik kan basıncı verisinin MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü. Gruplar arasında 6. hafta diastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,283$ ). Gruplar arasında 6. hafta ortalama arteriyel kan basıncı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS grubu ortalama arteriyel kan basıncı verisinin K grubuna ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (sırasıyla,  $p=0,009$ ,  $p=0,002$ , Tablo 10).

**Tablo 10. Deney gruplarının hemodinamik parametrelerinin 6. hafta karşılaştırılması**

<b>Gruplar</b>	<b>K (n=8)</b>	<b>MEL (n=8)</b>	<b>MS (n=8)</b>	<b>MS+MEL (n=8)</b>	<b>p</b>
<b>Sistolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	126,0±4,5	128,6±2,2	147,1±6,3	136,2±4,3	<b>&lt;0,001</b>
<b>Diastolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	110,3±10,1	106,0±3,2	112,0±5,6	109,7±2,9	0,283
<b>Ortalama Arteriyel Kan Basıncı (mmHg)</b>	115,0±8,8	113,5±1,5	123,7±4,0	119,2±1,6	<b>0,002</b>
<b>Kalp Atım Sayısı (dk)</b>	373,3±20,6	372,5±18,4	402,5±36,6	388,7±9,3	<b>0,049</b>

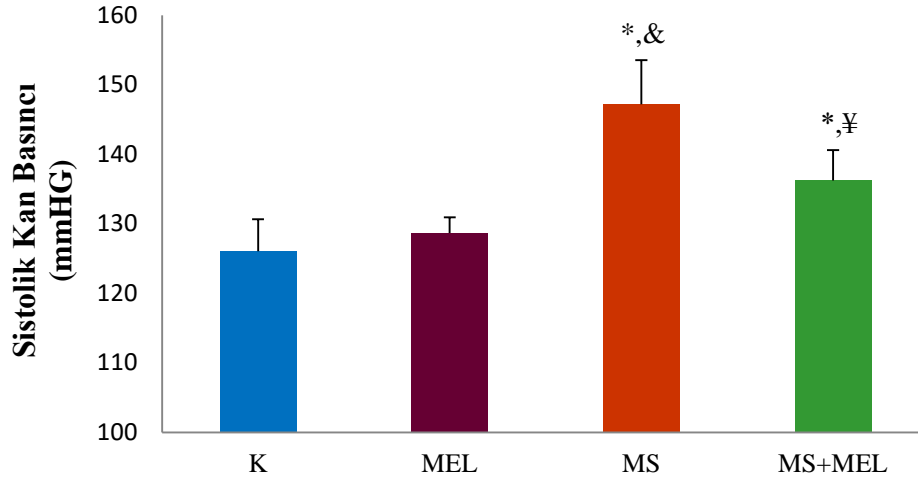
**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

**p:** Tek Yönlü ANOVA Testi, ort±ss: ortalama±standart sapma.

#### **Sistolik Kan Basıncı (6. hafta)**

Tüm grupların 6. hafta sistolik kan basıncı verileri incelendiğinde düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS ve MS+MEL grubunun sistolik kan basıncı verisinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,001$ ), Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS grubunun sistolik kan basıncı verisinin MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS+MEL grubunun sistolik kan basıncı verisinin MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptandı ( $p<0,001$ , Şekil 20).





**Şekil 20. Grupların 6. hafta sistolik kan basıncı değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

ort±ss: ortalama±standart sapma.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

### **Tüm grupların 8. hafta kan basıncı verileri**

Gruplar arasında 8. hafta sistolik kan basıncı verisi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,001$ , Tablo 11). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda sistolik kan basıncı açısından MS grubunda K grubu ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda sistolik kan basıncı açısından MS+MEL grubunda ise MS grubuna göre anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Gruplar arasında 8. hafta diyastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda diyastolik kan basıncı açısından MS grubunda K grubu ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda diyastolik kan basıncı açısından MS+MEL grubunda ise MS grubuna göre anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Gruplar arasında 8. hafta ortalama arteriyel kan basıncı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda ortalama arteriyel kan basıncı açısından MS grubunda K ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış görülürken ( $p<0,001$ ) MS+MEL grubunda ise

MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Gruplar arasında 8. hafta kalp atımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,231$ ) (Tablo 11).

**Tablo 11. Deney gruplarının Hemodinamik parametrelerinin 8. hafta karşılaştırması**

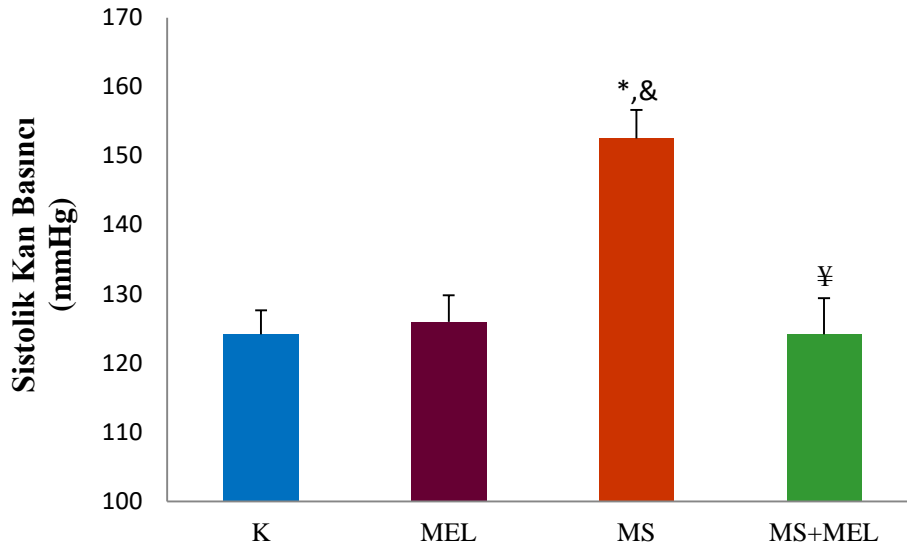
Gruplar	K (n=8)	MEL (n=8)	MS (n=8)	MS+MEL (n=8)	p
<b>Sistolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	124,1±3,4	125,9±3,8	152,4±4,1	124,1±5,2	<b>&lt;0,001</b>
<b>Diastolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	97,1±5,2	101,7±4,4	116,0±5,0	100,7±4,6	<b>&lt;0,001</b>
<b>Ortalama Arteriyel Kan Basıncı (mmHg)</b>	106,1±3,6	110,2±3,2	128,2±3,4	110,8±5,3	<b>&lt;0,001</b>
<b>Kalp Atım Sayısı (dk)</b>	366,3±16,3	373,4±17,0	381,4±12,5	374,2±9,2	0,231

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

**p:** Tek Yönlü ANOVA Testi, ort±ss: ortalama±standart sapma.

#### **Sistolik Kan Basıncı (8. hafta)**

Tüm grupların 8. hafta sistolik kan basıncı verileri incelendiğinde MS grubunun sistolik kan basıncı verisinin K ve MEL gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü ( $p<0,001$ ). MS+MEL grubu sistolik kan basıncı verisinin ise MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptandı ( $p<0,001$ , Şekil 21).



**Şekil 21. Grupların 8. hafta sistolik kan basıncı değerlerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

ort±ss: ortalama±standart sapma.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

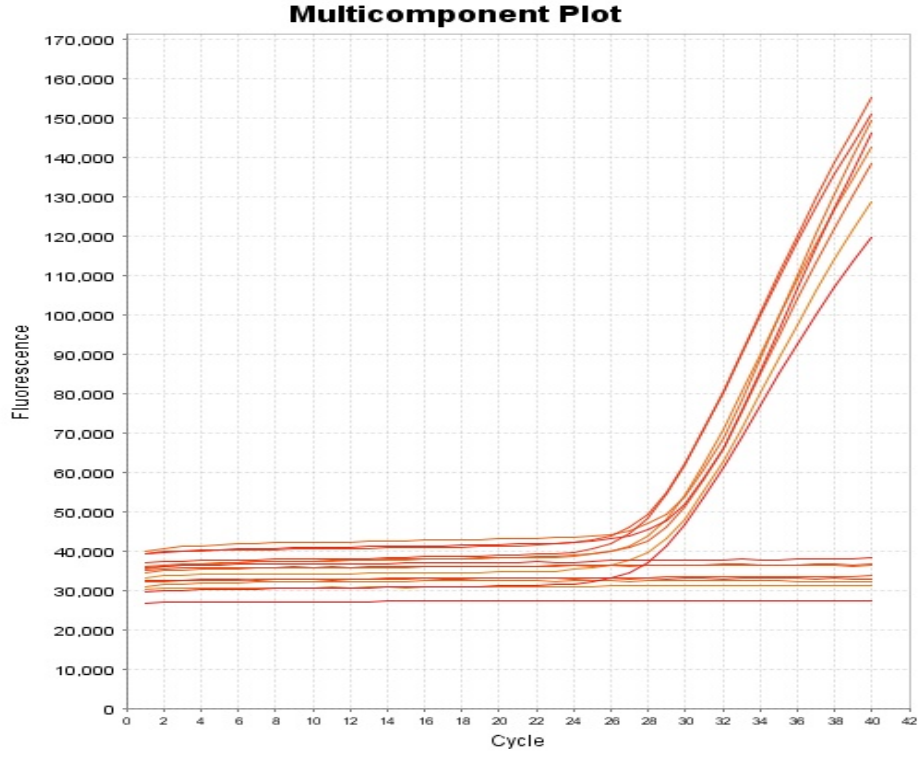
¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

### Genetik Analizler

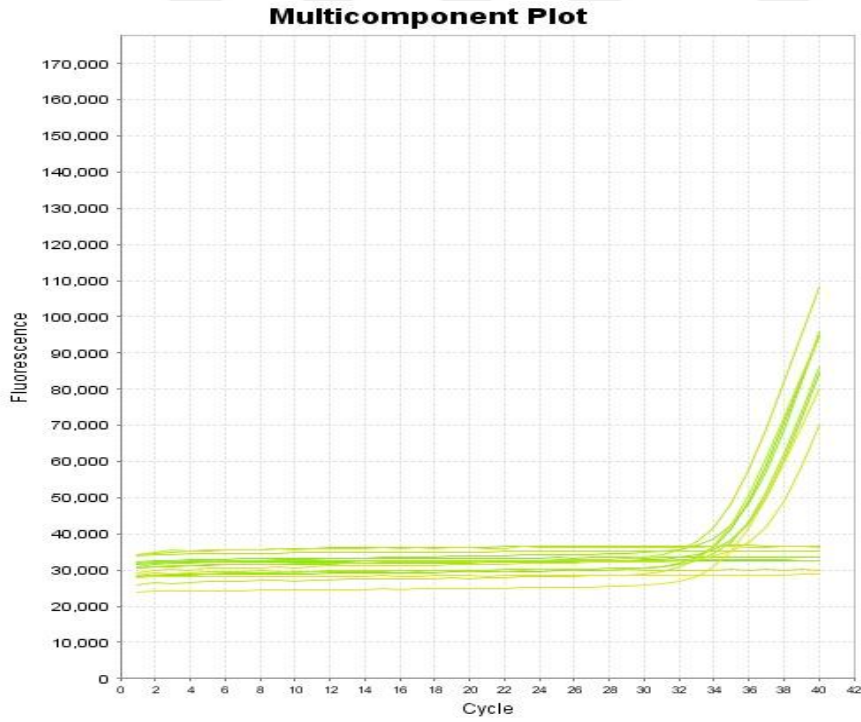
Deney sonunda tüm sıçanlardan sol ventrikül doku örnekleri alındı ve analiz edilinceye kadar -80 °C’de muhafaza edildi. Elde edilen sol ventrikül doku örneklerine ait analizler aşağıda verilmiştir.

### Tüm Genlere Ait Amlifikasyon Eğrileri

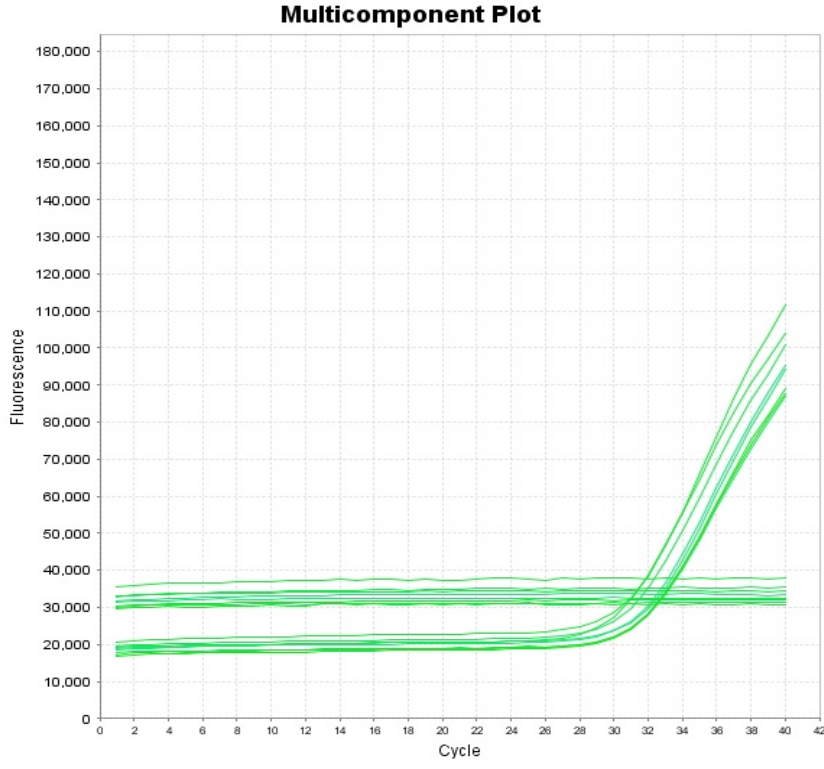
Kantitatif RT-PCR mRNA ifade analizi yapılan tüm genlerin (KCNQ1, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, KCNH2) amplifikasyon eğrileri Şekil 22, 23, 24, 25 ve 26’de verildiği gibidir.



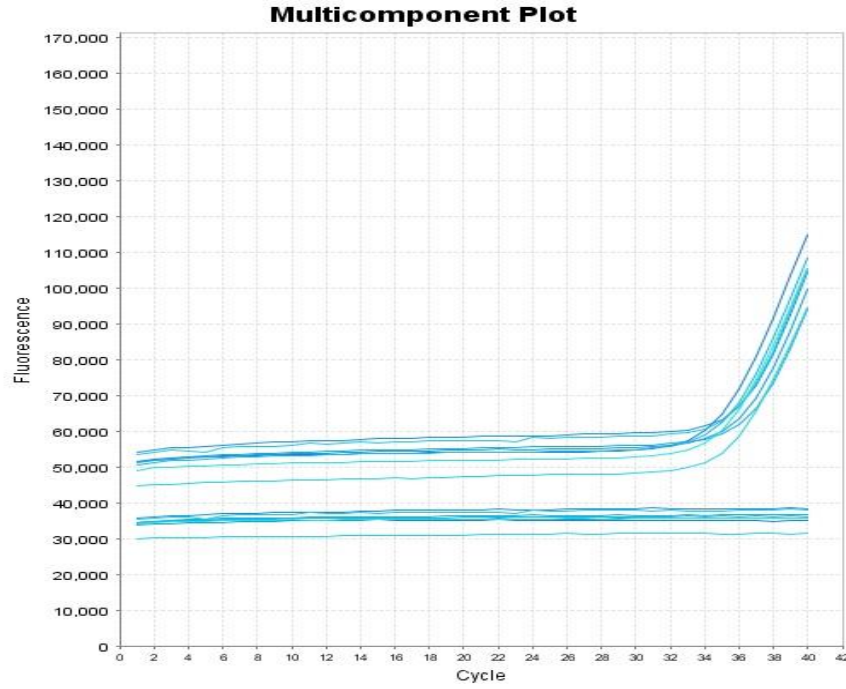
Şekil 22. KCNQ1 genine ait amplifikasyon eğrisi



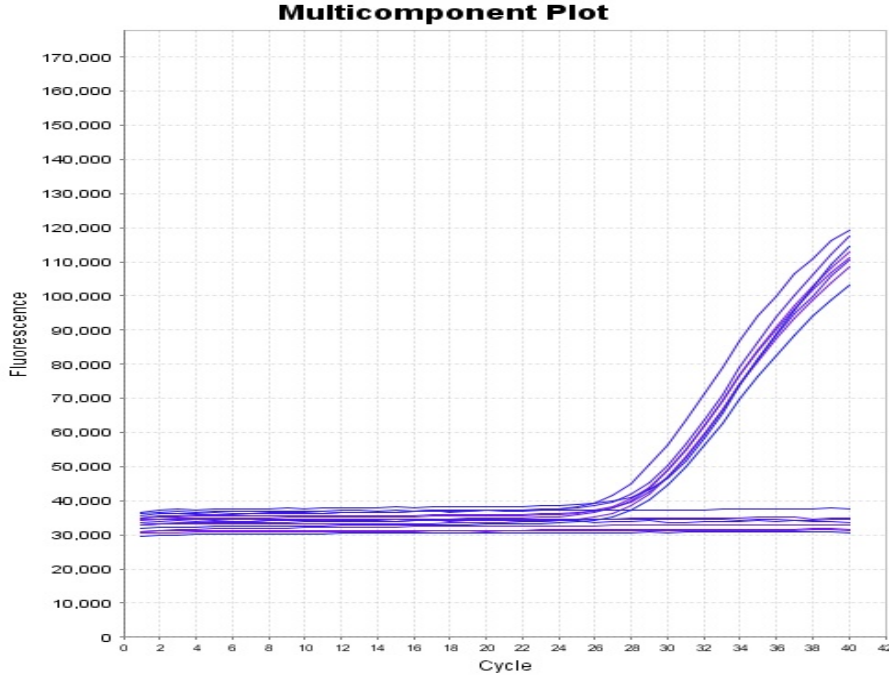
Şekil 23. KCNQ3 genine ait amplifikasyon eğrisi



**Şekil 24. KCNQ4 genine ait amplifikasyon eğrisi**



**Şekil 25. KCNQ5 genine ait amplifikasyon eğrisi**

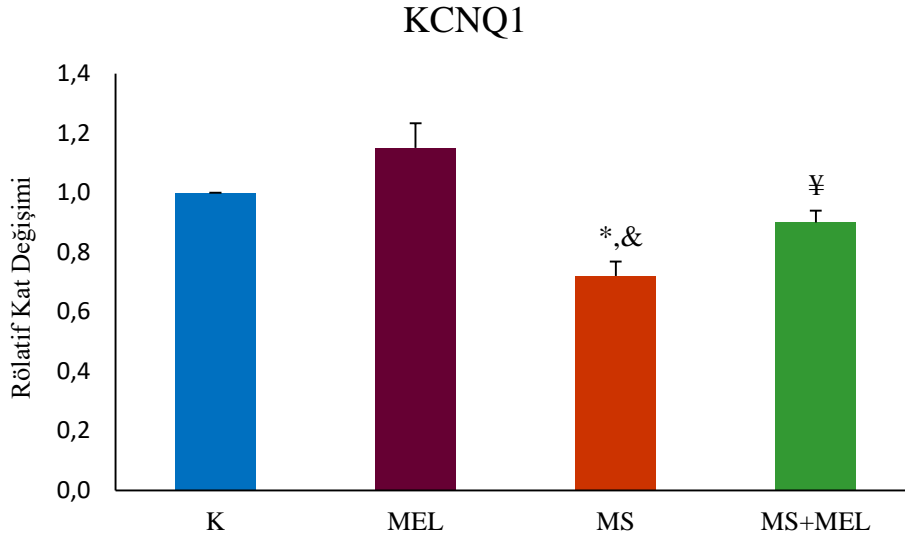


**Şekil 26. KCNH2 genine ait amplifikasyon eğrisi**

### **mRNA İfade Analizleri**

#### **KCNQ1 genine ait mRNA ifade analizi**

Tüm grupların sol ventrikül KCNQ1 geni mRNA ifadesine ait rölatif kat değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğu belirlendi ( $p < 0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS grubunda, KCNQ1 geni rölatif kat değişiminin K ve MEL gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptandı (sırasıyla  $p = 0,004$ ,  $p < 0,001$ ). Buna karşın MS+MEL grubunda MS grubuna göre KCNQ1 geni rölatif kat değişiminin anlamlı düzeyde artmış olduğu görüldü ( $p = 0,011$ , Şekil 27).



**Şekil 27. Grupların KCNQ1 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

ort±ss: ortalama±standart sapma.

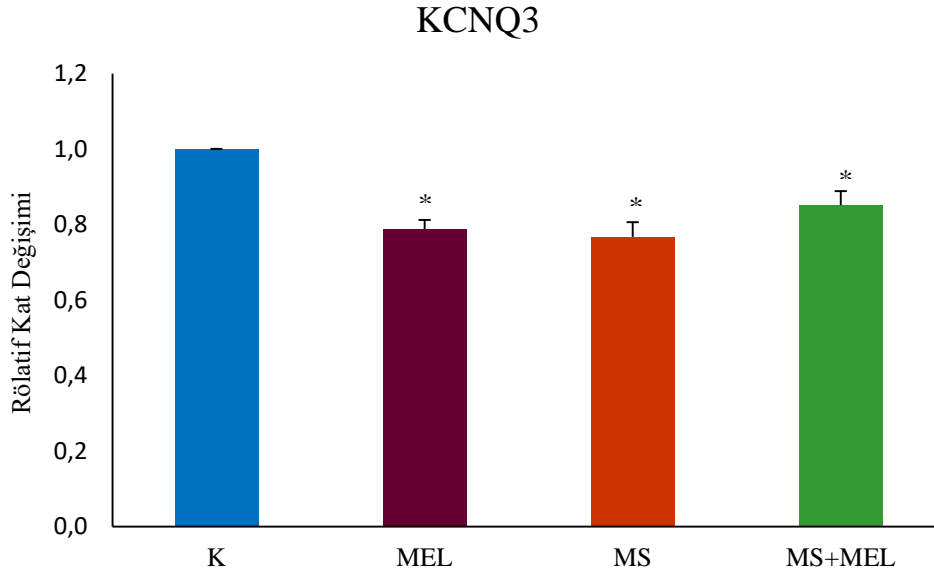
\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

### **KCNQ3 genine ait mRNA ifade analizi**

Tüm grupların sol ventrikül KCNQ3 geni mRNA ifadesine ait rölatif kat değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda KCNQ3 geni rölatif kat değişimi verisi açısından MEL, MS ve MS+MEL gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,007$ , Şekil 28).



**Şekil 28. Grupların KCNQ3 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

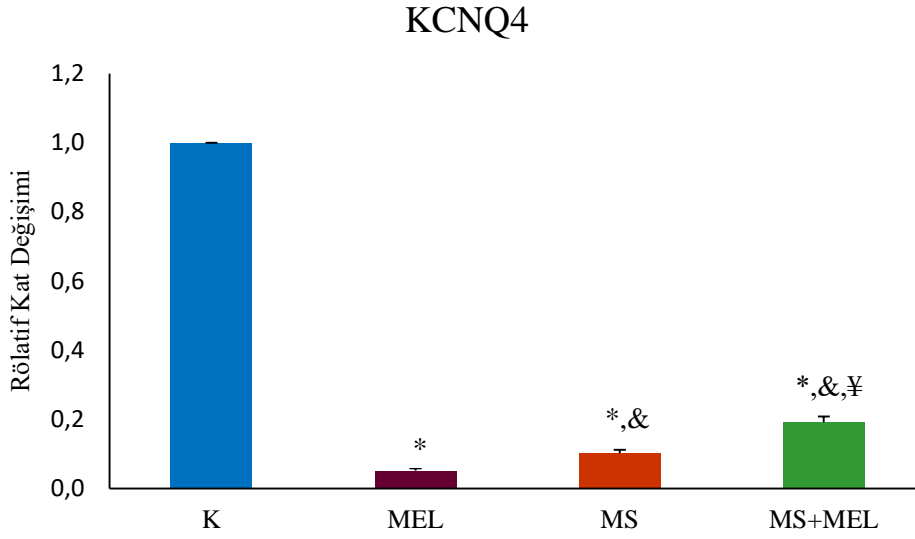
ort±ss: ortalama±standart sapma.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

#### **KCNQ4 genine ait mRNA ifade analizi**

Tüm grupların sol ventrikül KCNQ4 geni mRNA ifadesine ait rölatif kat değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda KCNQ4 geni rölatif kat değişimi açısından MEL, MS ve MS+MEL gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS ve MS+MEL gruplarında MEL grubuna göre KCNQ4 geni rölatif kat değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu belirlendi (sırasıyla  $p=0,012$ ,  $p<0,001$ ). Ayrıca düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda KCNQ4 geni rölatif kat değişimi açısından MS+MEL grubunda MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu belirlendi ( $p<0,001$ , Şekil 29).





**Şekil 29. Grupların KCNQ4 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

ort±ss: ortalama±standart sapma.

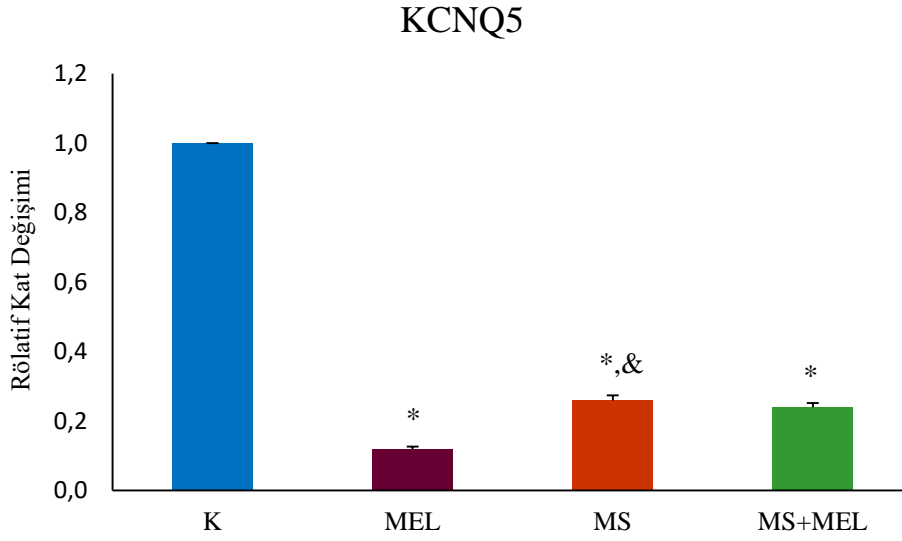
\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

### **KCNQ5 genine ait mRNA ifade analizi**

Tüm grupların sol ventrikül KCNQ5 geni mRNA ifadesine ait rölatif kat değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda KCNQ5 geni rölatif kat değişimi açısından MEL, MS ve MS+MEL gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda KCNQ5 geni rölatif kat değişimi açısından MS grubunda MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu saptandı ( $p<0,001$ , Şekil 30).



**Şekil 30. Grupların KCNQ5 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

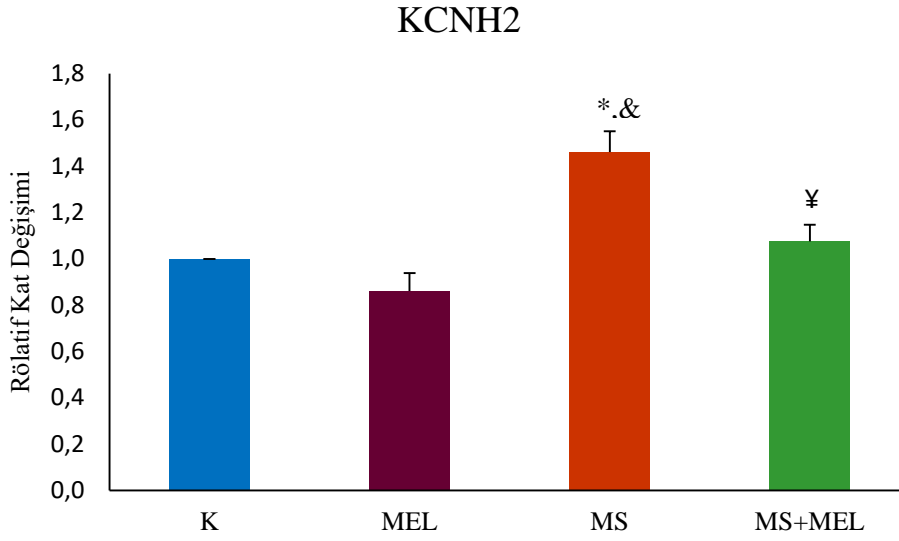
ort±ss: ortalama±standart sapma.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

#### **KCNH2 genine ait mRNA ifade analizi**

Tüm grupların sol ventrikül KCNH2 geni mRNA ifadesine ait rölatif kat değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda ise MS grubunda K ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artma olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ). Diğer taraftan düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS+MEL grubunda MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptandı ( $p=0,003$ , Şekil 31).



**Şekil 31. Grupların KCNH2 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

ort±ss: ortalama±standart sapma.

\*: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

&: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

¥: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

### **Elektrokardiyografi Bulguları**

Çalışmanın 1. günü, 6. haftası ve 8. haftası olmak üzere 3 farklı zamanda tüm sıçanlardan EKG kayıtları alındı. Alınan kayıtlardan RR süreleri ve QT aralıkları kullanılarak QTcB ve QTcF değerleri hesaplandı (Şekil 32).

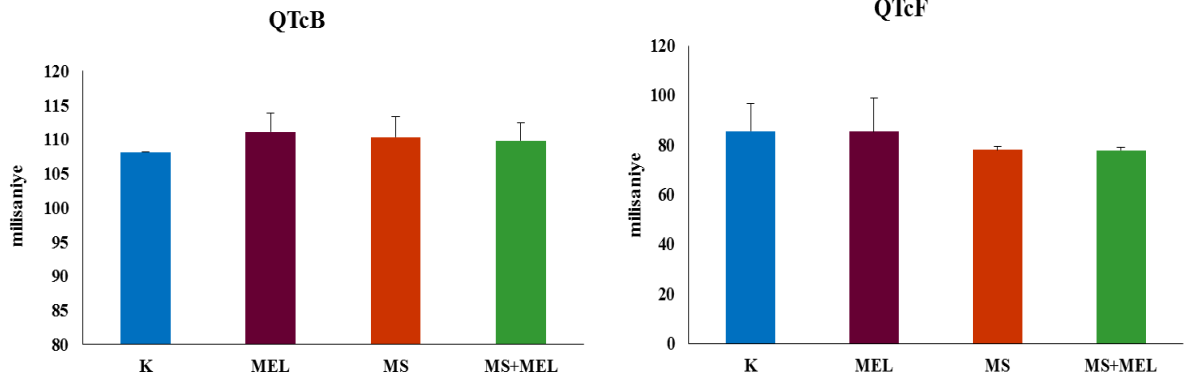
Çalışmanın 1. günü alınan EKG kayıtlarında QTcB ve QTcF verileri açısından tüm grupların karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla p=0,122, p=0,136, Şekil 32A).

Çalışmanın 6. haftası alınan EKG kayıtlarında da QTcB ve QTcF verileri açısından tüm grupların karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla p=0,052, p=0,051, Şekil 32B).

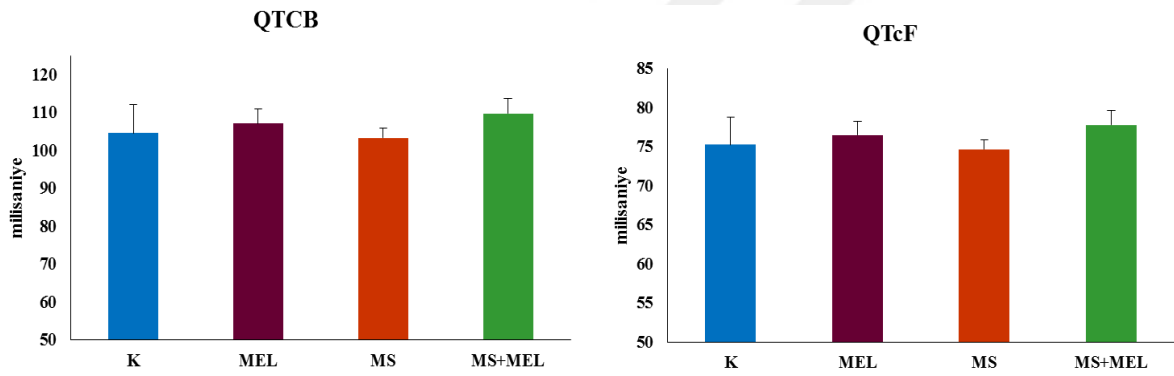
Çalışmanın 8. haftası alınan EKG kayıtlarında QTcB ve QTcF verileri açısından tüm grupların karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0,001, Şekil 32). Düzeltmeli ikili karşılaştırmalarda MS grubunda QTcB ve QTcF verileri açısından K ve MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı (p<0,001). Düzeltmeli

ikili karşılaştırmalarda QTcB ve QTcF verileri açısından MS+MEL grubunda MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p < 0,001$ , Şekil 32C).

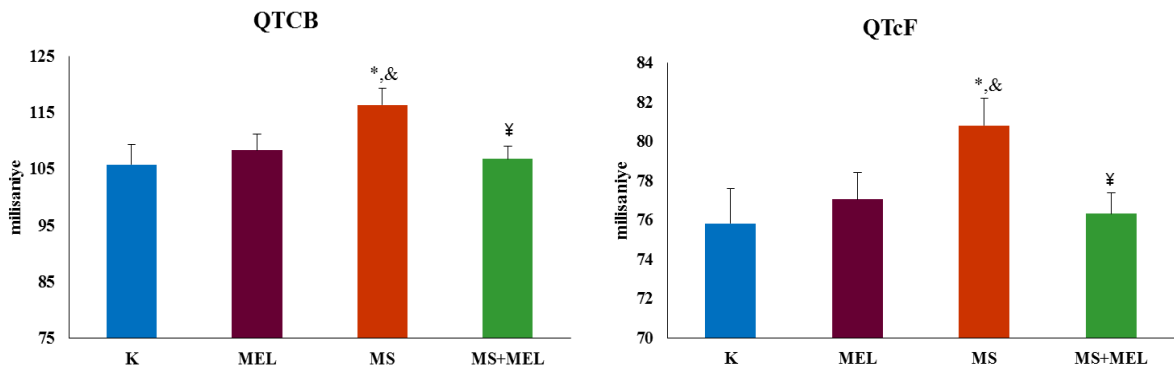
**A**



**B**



**C**



**Şekil 32. Tüm grupların QTcB ve QTcF verilerinin karşılaştırılması**

**K:** Kontrol, **MEL:** Kontrol+melatonin, **MS:** Metabolik sendrom, **MS+MEL:** Metabolik sendrom+melatonin

ort±ss: ortalama±standart sapma.

**A:** Gruplararası 1. gün EKG kaydı QTcB ve QTcF değerinin karşılaştırılması

**B:** Gruplararası 6.hafta EKG kaydı QTcB ve QTcF değerinin karşılaştırılması

**C:** Gruplararası 8.hafta EKG kaydı QTcB ve QTcF değerinin karşılaştırılması

**\***: K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

**&**: MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

**¥**: MS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık.



## TARTIŞMA

Bu tez çalışmasının amacı fruktozdan zengin beslenme yoluyla oluşturduğumuz metabolik sendrom modelinde kardiyak ventriküler aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazında (faz 3) etkin role sahip olan voltaj kapılı  $K^+$  iyon kanallarından Kv7 ve Kv11.1 kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonları ile EKG'de QT süresindeki değişimin incelenmesi ve kardiyak açıdan iyileştirici rol oynayabileceği düşünülen melatoninin yukarıda bahsedilen kardiyak iyon kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonları ile QT süresini nasıl etkilediğini değerlendirmektir. Bunun yanında melatoninin metabolik sendromla birlikte gelişen hipertansiyon, insülin direnci ve bazı kan parametrelerindeki değişim üzerine olan etkisinin de incelenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmamızda metabolik sendrom ile birlikte gelişen hiperglisemi, insülin direnci, dislipidemi ve kan basıncı artışı üzerine melatoninin azaltıcı etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın 1. günü, 6. haftası ve 8. haftası olmak üzere üç farklı zamanda aldığımız EKG kayıtları incelendiğinde metabolik sendrom gelişimi ile birlikte QT süresinin de istatistiksel olarak anlamlı şekilde uzadığı ve melatonin verilmesiyle birlikte bu uzamanın anlamlı düzeyde kontrol grubuna yakın değerlere gerilediği belirlenmiştir. Diğer taraftan ventriküler aksiyon potansiyeli oluşumunun faz 3 repolarizasyon evresinde etkin role sahip olan voltaj kapılı  $K^+$  iyon kanallarından Kv7 ve Kv11.1 kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonlarının metabolik sendrom ile birlikte ne yönde etkilendiğini de değerlendirdik. Elde ettiğimiz bulgulara göre ilginç olarak aynı gen ailesinde yer almalarına rağmen  $K^+$  iyon kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonlarındaki değişimin aynı yönde olmadığını belirledik. KCNQ genlerinin ekspresyon düzeyinin metabolik sendrom ile birlikte azaldığını fakat KCNH2 geninin ekspresyon düzeyinin arttığını belirledik. Ayrıca metabolik sendromla

birlikte ekspresyonlarında anlamlı değişimler belirlediğimiz genler üzerine melatoninin de anlamlı etkiler meydana getirdiğini saptadık. Bu durumun EKG verilerinde ventrikül repolarizasyonunun önemli bir parametresi olan QT süresindeki uzamayı destekler nitelikte olduğunu gördük.

Çalışmamızda metabolik sendrom oluşturduğumuz sıçanlarda kardiyak K<sup>+</sup> iyon kanallarını kodlayan genlerin ekspresyon seviyeleri, hemodinamik ölçümler ve belirlediğimiz biyokimyasal parametrelerdeki değişim ve melatoninin buradaki etkinliğini değerlendirme hedefimizi gerçekleştirmiş olduk. Çalışmamızda melatoninin metabolik sendromdaki etkinliği ile ilişkili elde ettiğimiz sonuçlar ile bu sonuçların işaret ettiği riskleri Şekil 33’de hipotetik bir şekilde ifade etmekteyiz. Metabolik sendrom görülme sıklığının kadınlarda erkeklere kıyasla daha fazla görüldüğü bilinmektedir (58). Biz de bu nedenle çalışmamızda dişi sıçan kullanmayı tercih ettik. Tüm sıçanlar sekiz haftalık deneysel süreci sağlıklı şekilde tamamladılar. Sıçanlarda çalışmanın ilk günü, 6. haftası ve 8. haftası yapmayı planladığımız tüm uygulamalar deneysel protokole uygun bir şekilde yapıldı. Çalışmanın son iki haftası melatonin veya *vehicle*’ın oral gavaj yoluyla uygulanması sırasında da herhangi bir problemle karşılaşılmadı. Sıçanlarda fruktozdan zengin beslenme modeli deneysel olarak metabolik sendrom oluşturulması amacıyla uygulanmaktadır (132,138). Modelin oluşturulmasında uygun dozda fruktoz kullanımı büyük önem taşımaktadır (71). Çalışmamızda deneysel metabolik sendrom modeli oluşturmak amacıyla sıçanların içme sularına 8 hafta süresince fruktoz ekledik. Kan parametreleri ve hemodinamik değerlendirmelerden elde ettiğimiz bulgular incelendiğinde çalışmamızda metabolik sendrom modeli oluşturulması hedeflenen gruplardaki sıçanların içme sularına 8 hafta süresince 200 g/lt dozunda fruktoz ilavesinin modelin gelişimi bakımından yeterli olduğunu belirledik.

Çalışmamızda metabolik sendrom oluşumu hedeflenen sıçanlarda serum insülin miktarı, glikoz miktarı, HOMA-IR indeksi, total kolesterol, trigliserit ve LDL düzeylerinin artmasının yanısıra kan basıncında da artış meydana geldiği belirlenmiştir. Böylece metabolik sendrom açısından bu deneysel modelin tüm bulguları karşıladığını düşünmekteyiz. Bunun yanında çalışmamızda metabolik sendrom gelişen sıçanlarda LDL verilerinin yanısıra HDL verilerinde de artış meydana geldiğini belirledik. Chiavaroli L ve ark., (139) tarafından yapılan meta-analize göre diğer karbonhidratlara kıyasla fruktozun HDL düzeyinde azaltıcı etkiye sahip olmayabileceği aksine doza bağlı olarak artırıcı etkiye de sahip olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca bu meta-analizde fruktoz uygulamasıyla birlikte HDL düzeyinde azalma yönünde değişim olabilmesi için uygulanan fruktoz dozunun oranının oldukça yüksek olması gerektiği de rapor edilmiştir.

Kan basıncı parametrelerimiz incelendiğinde, metabolik sendrom oluşumunu gösteren bileşenlerden olan kan basıncı artışının sistolik kan basıncı verileri açısından 6. hafta itibariyle geliştiği ve 8. haftada ise en yüksek değerlere ulaşıldığı görülmüştür (Tablo 10, Tablo 11). Diğer taraftan tüm sıçanlardan çalışmanın 1. günü, 6. haftası ve 8. haftası düzenli olarak alınan EKG kayıtları incelendiğinde metabolik sendrom modeli oluşturulan sıçanlarda QTc sürelerinin anlamlı şekilde uzadığı görülmektedir.

Gelişen toplumlarda değişen yaşam tarzıyla birlikte sirkadiyen ritimde de bozulmalar meydana gelmektedir. Bu durum çağımızda prevalansı giderek artmakta olan obezite, tip2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar açısından büyük bir risk barındırmaktadır (101). Sirkadiyen ritim bozuklukları beraberinde otonom sinir sistemi fonksiyonunu sempatik aktiviteyi baskın kılacak şekilde bozmakta ve bunun sonucu olarak yüksek kan basıncı, kaslarda bozulmuş glikoz yararlanımı, artmış insülin sekresyonu, yağlı karaciğer ve abdominal yağlanma görülmektedir (103). İnsan genomu çalışmaları, sirkadiyen ritim regülasyonu ile melatonin sentezi ve glikoz homeostazı arasında bir bağlantı olduğunu belirtmektedir (140,141). Çalışmalar ayrıca tip 2 diyabet ve metabolik sendrom etiyolojisinde plazma melatonin seviyesinde azalma yönünde değişimler olduğunu göstermektedir (142,143). Yüksek fruktoz diyeti insülin direncini ve metabolik stresi uyarmaktadır. Ayrıca yüksek fruktoz diyetinin, doğrudan veya hiperinsülinemi yoluyla dolaylı olarak melatonin sekresyonunu baskıladığı ve böylece metabolik sendrom parametrelerinden biri olan yüksek kan basıncına yol açtığı düşünülmektedir. Diğer taraftan melatoninin yüksek fruktoz diyetinin neden olduğu kan basıncı artışını önlediği ve aynı zamanda sempatik aktiviteyi de baskıladığı rapor edilmiştir. (144,145). Biz de çalışmamızda melatoninin metabolik sendrom gelişen sıçanlarda artmış kan basıncını azalttığını ve insülin direnci, artmış trigliserit düzeyi ve dislipidemi gibi birçok parametreyi düzeltici yönde aktivite gösterdiğini belirledik. Melatoninin sahip olduğu doğrudan vazorelaksatif etkisinin vasküler nitrik oksit sentaz yolu aktivitesini geliştirmesi, vasküler dokudaki kalsiyum içeriğini düşürmesi veya siklik guanozin monofosfat düzeyini yükseltmesi yoluyla olabileceği bildirilmiştir (146,147). Bu yönüyle melatoninin metabolik sendroma bağlı gelişen kan basıncı artışının kontrolünde etkin olabileceği rapor edilmiştir (144). Melatoninin, hiperinsülinemi, insülin direnci, hiperürisemi, dislipidemi ve hepatik steatozu iyileştirerek ve oksidatif stresi azaltarak sıçanlarda yüksek fruktoz alımının neden olduğu metabolik sendromu iyileştirtirici yönde etki gösterdiği belirtilmektedir (148,149). Diyabetik hastaların melatonin seviyelerinin sağlıklı insanlara kıyasla daha düşük olduğu ve insülin düzeyi ile melatonin düzeyi arasında fonksiyonel bir etkileşim olduğu rapor edilmiştir (115). Ayrıca, gece vardiyasında çalışma, yaşlanma ve



çevresel olarak yüksek aydınlatma seviyesine maruziyet gibi durumlarla birlikte kan melatonin seviyesinin azalmasıyla glikoz intoleransı ve insülin direnci gelişiminin ilişkilendirilebileceği belirtilmiştir (122). Yüksek LDL kolesterol düzeyleri olan bireylerde düşük melatonin seviyeleri görüldüğü rapor edilmiştir (92). Gece ışığa maruz kalmanın beraberinde vücut ağırlığında, bel çevresi genişlemesinde ve LDL kolesterol düzeylerinde önemli bir artışa sebep olduğu 528 yaşlı bireyde yapılan kesitsel bir çalışmayla ortaya konmuştur (150).

Düşük melatonin seviyesi, koroner kalp hastalığı, sol ventrikül hipertrofisi, enfarktüs ve konjestif kalp yetmezliği gibi birçok kardiyak hastalık riski ile ilişkilendirilmektedir (125,126). Melatoninin antioksidatif kapasitesi ve nitrik oksit sentaz yolağı üzerinden metabolik sendrom yanısıra, lipid metabolizması, hipertansiyon, miyokardiyal yaralanma, iskemi-reperfüzyon hasarı, pulmoner hipertansiyon ve vasküler hastalıklar dahil birçok hastalık üzerinde yararlı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, ucuz ve iyi tolere edilebilen bir ajan olarak melatoninin nokturnal kan basıncının azaltılmasında ve kardiyovasküler hastalıklarda kullanımı önerilmektedir (151). Biz de çalışmamızda elde ettiğimiz verilere dayanarak melatoninin metabolik sendromla birlikte düzeyleri artan parametrelerin iyileştirilmesi/azaltılmasındaki etkinliği sebebiyle kullanılabilirliğini ve bu yönde daha ayrıntılı moleküler çalışmaların yapılmasının gerektiğini düşünmekteyiz. Sirkadiyen ritimde önemli rol oynayan ve kardiyovasküler hastalıklarda kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu bilinen melatoninin kardiyak  $K^+$  iyon kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonunu nasıl etkilediğinin belirlenmesi ve bununla birlikte metabolik sendrom parametreleriyle EKG’de QT süresini nasıl etkilediğinin de incelenmesinin metabolik sendrom-kardiyak iyon akımı-melatonin ilişkisinin aydınlatılabilmesi açısından büyük öneme sahip olduğu görülmektedir.

Bizim çalışmamızda mRNA ekspresyon düzeylerini incelediğimiz KCNQ genlerinin ekspresyon seviyelerinin metabolik sendrom ile birlikte azaldığını belirledik. Fakat bu azalmanın aynı ailede yer almalarına rağmen tüm genler için geçerli olmadığını gördük. Bu durum bize bu genlerin kardiyak aksiyon potansiyeli faz 3 evresindeki etkinliklerinin farklı düzeylerde olabileceğini düşündürmektedir. Yaptığımız çalışmada KCNQ gen ailesi ekspresyon seviyeleri için görülen azalma yönündeki bu değişimi KCNH2 geni için söyleyememekteyiz (Şekil 33). Metabolik sendrom gelişiminin KCNH2 geni ekspresyonunu arttırıcı yönde etkiye sahip olduğunu belirledik. Bu durumda bu genin aktivitesinin metabolik sendrom ile birlikte arttığını söyleyebiliriz. Diğer taraftan melatoninin ise bu aktiviteyi azaltıcı etkiye sahip olduğu görülmektedir. Melatoninin sahip olduğu kardiyoprotektif etki bu iyon kanallarını kodlayan genler üzerinde de görülmektedir. Bu etkinin moleküler

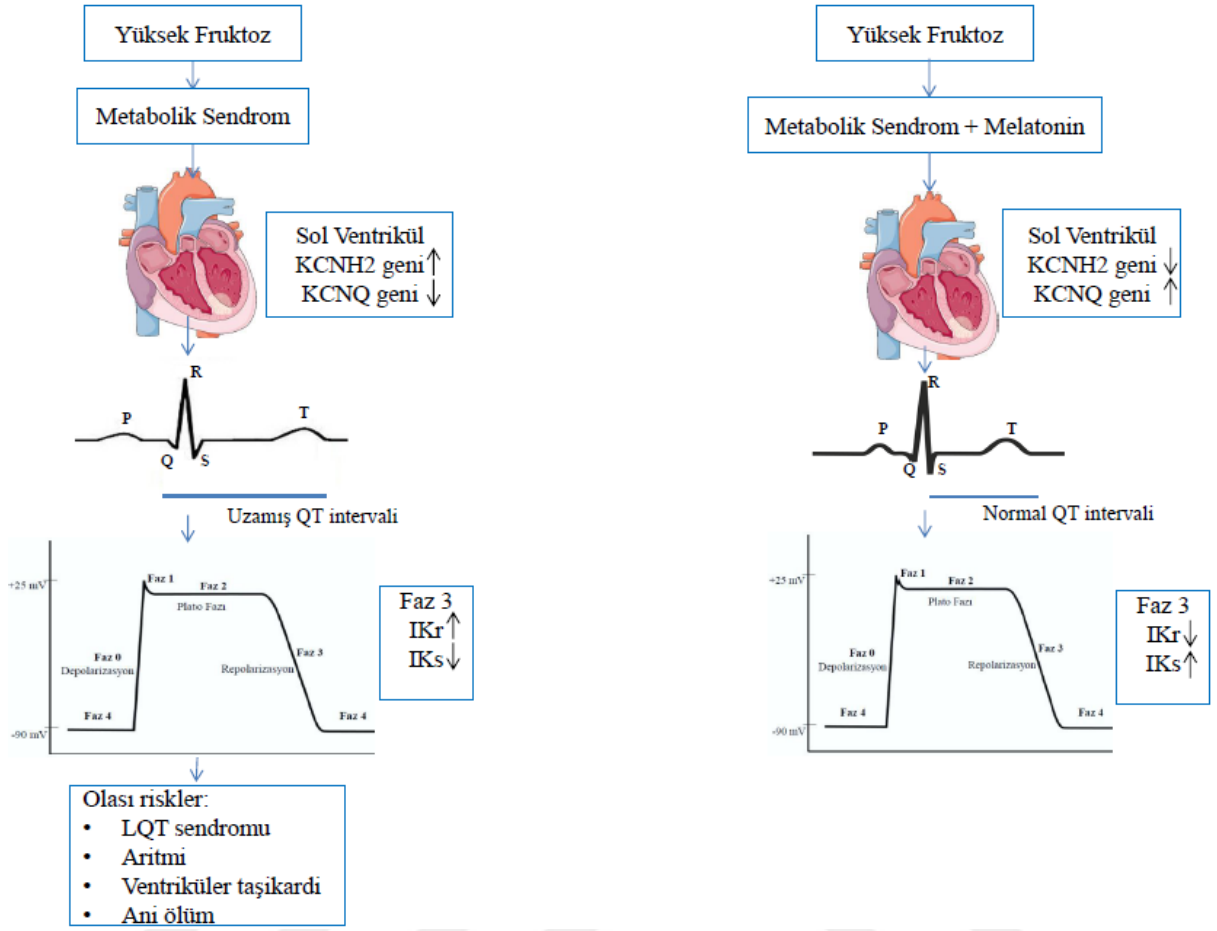
mekanizmalarıyla birlikte aydınlatılabilmesi için daha ayrıntılı araştırmaların yapılmasının gerekliliği açıktır. Bununla birlikte kalpte  $K^+$  iyonu yoğunluğunun artışı kardiyak elektriksel yeniden şekillenmeye sebep olabilmektedir. Bu nedenle aksiyon potansiyeli süresi kardiyak  $K^+$  iyon yoğunluğuna bağlı olarak değişmekte ve oluşabilecek supraventriküler aritmilerin düzeltilmesi için bu kanallar önemli bir hedef haline gelmektedir (152).

Bu çalışmada incelediğimiz  $K^+$  kanallarından bir tanesi de Kv11.1 (hERG) kanaludur. hERG kanalı inhibitörleri ve  $K^+$  kanalının açık kalma süresini sınırlayan hücrel aracıların, aksiyon potansiyeli süresinin modülasyonu ve dolayısıyla metabolik bozukluğu olan hastalarda supraventriküler aritmilere yatkınlığı sınırlayabileceği yorumu yapılmaktadır (152,153).  $K^+$  kanalı (Kv11.1) akışının yoğunluğunun artmasının ve  $Ca^{++}$  iyonu yoğunluğunun azalma yönünde değişiminin metabolik sendrom oluşturma yöntemlerinden biri olan yüksek yağlı diyet ile beslenen kobayları supraventriküler aritmilere daha yatkın hale getirdiği rapor edilmiştir (152). Biz de çalışmamızda metabolik sendrom modeli oluşturduğumuz sıçanlarda Kv11.1 kanalını kodlayan KCNH2 geninin ekspresyonunun anlamlı yönde arttığını ve melatonin uygulamasının bu artışı anlamlı şekilde düşürücü etkiye sahip olduğunu belirledik. Dolayısıyla metabolik sendromlu sıçanlarda KCNH2 geninin kodladığı  $K^+$  iyon kanalı olan Kv11.1 kanalının mRNA düzeyindeki ekspresyon artışının bu sıçanlarda supraventriküler aritmi riskini artırıcı yönde etki gösterebileceğini ve bu konunun ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca ekspresyon verileri gözönüne alındığında melatoninin de bu durumu düzeltici anlamda aktivite göstermesinin melatoninin bu yönüyle etkin bir ajan olarak kullanılabilirliğini akıllara getirmekte ve bu konunun daha ayrıntılı olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Hızlı  $K^+$  kanallarının metabolik bozukluklarla ilişkili aritmilere fonksiyonel katkısı moleküler anlamda tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Uzun QT (LQT) sendromu, etkin olan kanalların aktivitelerine göre LQT1 ile LQT2 ve bunların dışında farklı LQT sendromları olarak da sınıflandırılabilir. LQT2'ye neden olan hERG kanalı aktivite değişimleri bildirilen konjenital LQTS vakalarının yaklaşık %45'ini oluştururken LQT1'e sebep olan Kv7 kanalı aktivite değişimleri LQTS vakalarının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır (154). Sempatik aktivite artışı sonucunda kalp atım hızını artırmak, aksiyon potansiyeli süresiyle kalp ritmini normalleştirmek için  $K^+$  kanalı hızlı komponentinin ekspresyonunun (Kv11.1) artış gösterdiği görülmektedir (155). Bu durum çalışmamızda Kv11.1 kanalının yukarı yönlü ekspresyonuyla uyumlu görülmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz EKG bulguları değerlendirildiğinde metabolik sendrom gelişen sıçanlarda QT sürelerinin uzadığı görülmektedir. Melatoninin bu durumda artmış QT süresini istatistiksel olarak anlamlı

düzeyde azaltıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre metabolik sendrom oluşumuyla birlikte EKG’de görülen süresi uzamış QT aralığının Kv11.1 kanalından çok Kv7 kanalı aktivitesine bağlı olarak geliştiğini düşünmekteyiz. LQT sendromlarının yaklaşık %50’sinden sorumlu olan Kv7 kanalı ekspresyonunun azalmasının bu yönüyle ventriküler aksiyon potansiyeli repolarizasyon fazında Kv11.1 kanalına kıyasla daha etkin role sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Tüm bulgular elde alındığında görülmektedir ki modelimizde metabolik sendrom gelişiminin en önemli belirleyici parametreleri olan insülin direnci, hiperglisemi, dislipidemi ve kan basıncı artışı gelişmiştir. Bu durum metabolik sendrom gelişimi için literatürle uyumlu olarak 8 haftalık deneysel periyod ve içme suyuna 200 g/l dozunda fruktoz ilavesinin modelin oluşumu için yeterli olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda etkinliğini görmeyi hedeflediğimiz melatoninin bahsettiğimiz tüm bu parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olumlu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum metabolik sendrom için melatonin tarafından meydana getirilen düzeltici bir etki olarak düşünülebilir. Metabolik sendrom modeli oluşturduğumuz sıçanlardan elde ettiğimiz kalp sol ventrikül doku örneklerinde kardiyak aksiyon potansiyeli oluşumu repolarizasyon evresinde en etkin role sahip  $K^+$  kanallarından Kv11.1 ve Kv7 kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonlarının metabolik sendrom gelişimiyle birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişim gösterdiği ancak bu değişimin her iki gen ailesi için farklı yönde olduğu saptanmıştır. Melatoninin ise bu kanalları kodlayan genlerin ekspresyonlarında anlamlı etkiler meydana getirerek EKG’de uzamış QT süresi üzerinde anlamlı düzelmeler oluşturduğunu saptadık. Böylelikle sahip olduğu tüm bu olumlu sonuçlarla melatoninin metabolik sendromda kullanılabileceğini düşünmekteyiz.



**Şekil 33. İncelenen kardiyak parametreler ve bu parametrelere bağlı öngörülen riskler**

## SONUÇLAR

Sıçanların içme sularına fruktoz ilave ederek oluşturduğumuz deneysel metabolik sendrom modelinde belirlenen gruplara son iki hafta boyunca her gün oral gavaj yoluyla melatonin verildi. Deneysel sürecin bitimiyle birlikte tüm sıçanlardan sol ventrikül doku örnekleri alındı. Alınan sol ventrikül doku örneklerinden Kv11.1 ve Kv7 kanallarını kodlayan genlerin ekspresyon seviyeleri belirlendi. Elde ettiğimiz bulgular sonucunda aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır;

Deneysel sonunda elde ettiğimiz sol ventrikül doku örneklerinde kardiyak aksiyon potansiyeli repolarizasyon fazında (faz 3 evresinde) etkin olan  $K^+$  kanallarından Kv11.1'i kodlayan gen olan KCNH2 gen ekspresyonunda artış ve Kv7 kanallarını kodlayan KCNQ gen ailesinin ekspresyon düzeylerinde metabolik sendrom ile birlikte anlamlı azalmalar meydana geldiği saptanmıştır. Ayrıca metabolik sendromlu sıçanlarda melatonin uygulamasının bu genlerin ekspresyonlarını tam tersi yönde etkilediği görülmüştür.

Sıçanlarda içme suyuna 8 hafta süresince 200 g/lt dozunda fruktoz ilavesi deneysel metabolik sendrom modeli oluşumunun en önemli belirteçleri arasında yer alan hiperglisemi, insülin direnci, trigliserit düzeyi artışı, dislipidemi ve kan basıncı artışı gelişimi için yeterlidir. Bu yönüyle çalışmamızda metabolik sendrom modeli oluşturulmuştur.

Sıçanlara oral gavaj yoluyla 20 mg/kg/gün dozunda melatonin verilmesinin metabolik sendrom parametrelerini azaltıcı/olumlu yönde etki gösterdiği görülmüştür.

Deneysel süreçte üç farklı zamanda aldığımız EKG kayıtlarında metabolik sendrom gelişimiyle QT sürelerinin de uzadığını ve melatoninin bu uzamayı normale yakın değerlere geriletebildiği belirlenmiştir.

Tüm bu sonuçlar melatoninin metabolik sendromda hem kan parametreleri hem de hemodinamik veriler üzerinde olumlu etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bunun yanında melatonin, metabolik sendromla birlikte ilerleyen süreçte gelişmesi kuvvetle muhtemel olan kardiyovasküler hastalıklarda  $K^+$  iyon kanalları üzerinden etkin bir kardiyoprotektif role sahip olabilir. Çalışmamızda metabolik sendrom-melatonin-kardiyak iyon kanalları ilişkisinin değerlendirilmesinin metabolik sendrom parametrelerinin normale döndürülmesi konusunda yol gösterici olabileceğini ve daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasına öncülük edebileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışmanın bulgularına göre, metabolik sendrom oluşum sürecinin kardiyak aksiyon potansiyeli üzerine etkisinde ve ayrıca melatoninin bu süreçteki düzeltici etkilerinde ventriküldeki potasyum iyon akımını düzenleyen  $Kv11.1$  ve  $Kv7$  kanallarının gen ifadeleri farklı şekilde değişim göstermiştir. Bu nedenle metabolik sendromun kardiyak etkileri moleküler açıdan incelenirken, potasyum kanal alt tiplerindeki genetik değişimlerin ayrı ayrı ele alınması daha açıklayıcı olabilir. Ayrıca, kardiyak aksiyon potansiyeli oluşumunda rol alan ve  $K^+$  kanallarıyla ilişkili diğer iyon kanallarının metabolik sendrom ve melatonin uygulamalarından nasıl etkilendiğinin belirlenmesinin ve bu kanalların iyon geçirgenliği ile birlikte protein düzeyindeki değişimlerinin de incelenmesinin gerekliliğini belirtmekteyiz. Elde ettiğimiz bulguların dünya çapında prevalansı giderek artmakta olan metabolik sendromda tedaviye yönelik yapılan çalışmalara katkı sağlayabileceğini sunacağını düşünmekteyiz.

## ÖZET

Günümüzde prevalansı giderek artmakta olan metabolik sendrom ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Çalışmamızda melatoninin metabolik sendrom kan parametreleri ile kardiyak aksiyon potansiyeli oluşumu faz 3 evresinde etkin K<sup>+</sup> iyon kanallarının ekspresyon seviyeleri ve EKG’de QT intervali üzerine etkilerini belirlemeyi hedefledik.

Çalışmamızda Sprague-Dawley ırkı erişkin 32 adet sıçan kullandık. Sıçanlar her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 4 farklı gruba ayrıldı. Deney grupları kontrol, kontrol+melatonin, metabolik sendrom ve metabolik sendrom+melatonin şeklinde dizayn edildi. Metabolik sendrom oluşturulması hedeflenen sıçanların içme sularına günlük 200 g/lt dozunda taze olarak hazırlanan fruktoz eklendi. Çalışmanın son iki haftasında belirlenen gruplara 20 mg/kg/gün dozunda günlük taze hazırlanan melatonin oral gavaj yoluyla verildi. Çalışmanın ilk günü, 6. haftası ve 8. haftası olmak üzere üç farklı zamanda sıçanlardan kan basıncı ölçümü ve EKG kayıtları alındı. Çalışmanın 8. haftasının sonunda tüm sıçanlardan kan ve sol ventrikül doku eldesi yapıldı.

Çalışmamızda metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla insülin direnci, hiperglisemi, dislipidemi ve kan basıncı artışı geliştiğini gözlemledik (p<0,05). Melatonin verdiğimiz sıçanlarda metabolik sendromlu sıçanlara kıyasla yukarıda belirtilen değişikliklerin gerilediğini belirledik (p<0,05). Metabolik sendromda EKG’de QT süresinde uzama, kardiyak Kv11.1 ve Kv7 kanallarını kodlayan genlerin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel anlamlı değişimler gerçekleştiğini belirledik (p<0,05). Melatonin verilen sıçanlarda QT süresi ile Kv11.1 ve Kv7 kanallarını kodlayan genlerin ekspresyonlarında metabolik sendromun neden olduğu değişimlerin tam tersi etkiler görüldü.

Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde metabolik sendrom modeli oluşturulan sıçanlarda melatoninin uzamış QT süresini kısaltarak ventrikül repolarizasyonunda olumlu etki gösterdiği ve bu etkiyi kardiyak aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazında etkin  $K^+$  kanallarını kodlayan KCNH2 ve KCNQ gen ailesi üzerinden oluşturduğu belirlenmiştir.





## **EFFECTS OF MELATONIN ON CARDIAC ION CHANNELS IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME**

### **SUMMARY**

The metabolic syndrome prevalence is increasing and has become a serious public health problem. In our study, we aimed to determine the effects of melatonin on blood parameters in metabolic syndrome and expression levels of K<sup>+</sup> ion channels, which have an essential role in the phase 3 of cardiac action potential formation, and the QT interval in ECG.

We used 32 adult Sprague-Dawley rats in our study. The rats were divided into 4 distinct groups as 8 rats in each group. The experimental groups were designed as control, control + melatonin, metabolic syndrome and metabolic syndrome + melatonin. Freshly prepared fructose at a daily dose of 200 g/lit was added to the drinking water of rats whose metabolic syndrome was targeted. In the last two weeks of the study, freshly prepared melatonin at a dose of 20 mg/kg/day was administered via oral gavage. Blood pressure measurements and ECG recordings were taken from rats at three different times: the first day, 6<sup>th</sup> week and 8<sup>th</sup> week of the study. At the end of the 8<sup>th</sup> week of the study, blood and left ventricular tissue were harvested from all rats.

In our study, we observed that insulin resistance, hyperglycemia, dyslipidemia and blood pressure increasing developed in rats with metabolic syndrome compared to the control group (p<0.05). We found that the above-mentioned alterations regressed in rats given melatonin compared to rats with metabolic syndrome (p<0.05). We determined that in metabolic syndrome, prolonged QT interval on ECG and statistically significant changes occurred in the expression levels of genes encoding cardiac Kv11.1 and Kv7 channels

( $p < 0.05$ ). In rats given melatonin, the opposite effects of the changes caused by metabolic syndrome were determined in the expression of the genes encoding the Kv11.1 and Kv7 channels and the QT duration.

All these findings were evaluated and it was concluded that melatonin had ameliorative effect on ventricular repolarization by shortening the prolonged QT duration in rats with the metabolic syndrome model, and this effect was generated by the KCNH2 and KCNQ gene family, which encode essential  $K^+$  channels in the repolarization phase of the cardiac action potential.



## KAYNAKLAR

1. Lehnen AM, Rodrigues B, Irigoyen MC, De Angelis K, Schaan BDA. Cardiovascular changes in animal models of metabolic syndrome. *J Diabetes Res* 2013;2013:761314.
2. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Function. *Nutrients* 2017;9(4):335.
3. Bulut İK, Mir S. Fruktöz ve böbrek hastalıkları. *Cumhuriyet Tıp Derg.* 2011;33:499-507.
4. Aromolaran AS, Boutjdir M. Cardiac ion channel regulation in obesity and the metabolic syndrome: relevance to long QT syndrome and atrial fibrillation. *Front Physiol* 2017;8:431.
5. Albarado-Ibañez A, Avelino-Cruz JE, Velasco M, Torres-Jácome J, Hiriart M. Metabolic syndrome remodels electrical activity of the sinoatrial node and produces arrhythmias in rats. *PLoS One* 2013;8(11):e76534.
6. G.Mul`e E, Nardi S, Cottone S, Cusimano P, Volpe V, Piazza G, et al. Influence of metabolic syndrome on hypertension-related target organ damage. *J Intern Med* 2005;257(6):503-513.

7. Fuentes LDL, Brown AL, Mathews SJ, Waggoner AD, Soto PF, Gropler RJ, et al. Metabolic syndrome is associated with abnormal left ventricular diastolic function independent of left ventricular mass. *Eur Heart J* 2007;28(5):553-559.
8. Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, Ma S. Obesity and metabolic syndrome: association with chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression. *Ann Med* 2012;44(6):564-77.
9. Fu Z, Jiao Y, Wang J, Zhang Y, Shen M, Reiter RJ, et al. Cardioprotective role of melatonin in acute myocardial infarction. *Front Physiol* 2020;11:366.
10. Wang J, Toan S, Li R, Zhou H. Melatonin fine-tunes intracellular calcium signals and eliminates myocardial damage through the IP3R/MCU pathways in cardiorenal syndrome type 3. *Biochem Pharmacol* 2020;174:113832.
11. Baltatu OC, Senar S, Campos LA, Cipolla-Neto. Cardioprotective melatonin: translating from proof-of-concept studies to therapeutic use. *J Int J Mol Sci* 2019;20(18):4342.
12. Prado NJ, Egan Beňová T, Diez ER, Knežl V, Lipták B, Ponce Zumino AZ, et al. Melatonin receptor activation protects against low potassium-induced ventricular fibrillation by preserving action potentials and connexin-43 topology in isolated rat hearts. *J Pineal Res* 2019;67(4):e12605.
13. Diez ER, Renna NF, Prado NJ, Lembo C, Ponce Zumino AZ, Vazquez-Prieto M, et al. Melatonin, given at the time of reperfusion, prevents ventricular arrhythmias in isolated hearts from fructose-fed rats and spontaneously hypertensive rats. *J Pineal Res* 2013;55(2):166-73.
14. Agil A, Navarro-Alarcon M, Ruiz R, Abuhamad S, El-Mir MY, Vazquez GF. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid profile in young Zucker diabetic fatty rats. *J Pineal Res* 2011;50:207-212.

15. Kozirog M, Poliwczak AR, Duchnowicz P, KoterMichalak M, Sikora J, Broncel M. Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *J Pineal Res* 2011;50:261-266.
16. Bartos DC, Grandi E, Ripplinger CM. Ion channels in the heart. *Compr Physiol* 2015;5(3):1423-64.
17. Klabunde RE. Cardiac electrophysiology: normal and ischemic ionic currents and the ECG. *Adv Physiol Educ* 2017;41(1):29-37.
18. Jeevaratnam K, Chadda KR, Huang CL, Camm AJ. Cardiac potassium channels: physiological insights for targeted therapy. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2018;23(2):119-129.
19. Huang CL. Murine electrophysiological models of cardiac arrhythmogenesis. *Physiol Rev* 2017;97(1):283-409.
20. Giudicessi JR, Ackerman MJ. Potassium-channel mutations and cardiac arrhythmias- diagnosis and therapy. *Nat Rev Cardiol* 2012;9(6):319-332.
21. Bal R, Agar E. Sinir hücrelerinin voltaja duyarli potasyum membran kanalları ve fonksiyonları. *O. M. Ü. Tıp Dergisi* 2002;19(3):229-234.
22. Wulff H, Castle NA, Pardo LA. Voltage-gated potassium channels as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 2009;8(12):982-1001.
23. Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev* 2005;85(4):1205-1253.
24. Grant AO. Cardiac ion channels. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2009;2(2):185-194.
25. Tamargo J, Caballero R, Gomez R, Valenzuela C, Delpon E. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Res* 2004;62(1):9-33.

26. Snyders DJ. Structure and function of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Res* 1999;42(2):377-390.
27. Piper DR, Hinz WA, Tallurri CK, Sanguinetti MC, Tristani-Firouzi M. Regional specificity of human ether-a-go-go-related gene channel activation and inactivation gating. *J Biol Chem* 2005;280(8):7206-7217.
28. Yellen G. The voltage-gated potassium channels and their relatives. *Nature* 2002;419(6902):35-42.
29. Schmitt N, Grunnet M, Olesen SP. Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia. *Physiol Rev* 2014;94(2):609-653.
30. Jespersen T, Grunnet M, Olesen SP. The KCNQ1 potassium channel: from gene to physiological function. *Physiology (Bethesda)* 2005;20:408-416.
31. Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK. Two components of cardiac delayed rectifier K<sub>p</sub> current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol* 1990;96(1):195-215.
32. Jurkiewicz NK, Sanguinetti MC. Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. Specific block of rapidly activating delayed rectifier K<sub>p</sub> current by dofetilide. *Circ Res* 1993;72(1):75-83.
33. Delpon E, Valenzuela C, Perez O, Casis O, Tamargo J. Propafenone preferentially blocks the rapidly activating component of delayed rectifier K<sub>p</sub> current in guinea pig ventricular myocytes. Voltage-independent and time-dependent block of the slowly activating component. *Circ Res* 1995;76(2):223-235.
34. Shieh CC, Coghlan M, Sullivan JP, Gopalakrishnan M. Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol Rev* 2000;52(4):557-594.

35. Schram G, Pourrier M, Melnyk P, Nattel S. Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function. *Circ Res* 2002;90(9):939-950.
36. Zhang H, Flagg TP, Nichols CG. Cardiac sarcolemmal K(ATP) channels: latest twists in a questing tale. *J Mol Cell Cardiol* 2010;48(1):71-75.
37. Barrese V, Stott JB, Greenwood IA. KCNQ-Encoded Potassium Channels as Therapeutic Targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2018;58:625-648.
38. Li Y, Um SY, McDonald TV. Voltage-gated potassium channels: regulation by accessory subunits. *Neuroscientist* 2006;12(3):199-210.
39. Soldovieri MV, Miceli F, Tagliatela M. Driving with no brakes: molecular pathophysiology of Kv7 potassium channels. *Physiology (Bethesda)* 2011;26(5):365-76.
40. Borjesson SI, Elinder F. Structure, function, and modification of the voltage sensor in voltage-gated ion channels. *Cell Biochem Biophys* 2008;52(3):149-74.
41. Fosmo AL, Skraastad OB. The Kv7 channel and cardiovascular risk factors. *Front Cardiovasc Med* 2017;4:75.
42. Hedegaard ER, Johnsen J, Povlsen JA, Jespersen NR, Shanmuganathan JA, Laursen MR, et al. Inhibition of KV7 channels protects the rat heart against myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther* 2016;357:94-102.
43. Jonsson A, Isomaa B, Tuomi T, Taneera J, Salehi A, Nilsson P, et al. A variant in the KCNQ1 gene predicts future type 2 diabetes and mediates impaired insulin secretion. *Diabetes* 2009;58(10):2409-13.
44. Torekov SS, Iepsen E, Christiansen M, Linneberg A, Pedersen O, Holst JJ, et al. KCNQ1 long QT syndrome patients have hyperinsulinemia and symptomatic hypoglycemia. *Diabetes* 2014;63(4):1315-25.

45. Morales-Cano D, Moreno L, Barreira B, Pandolfi R, Chamorro V, Jimenez R, et al. Kv7 channels critically determine coronary artery reactivity: left-right differences and down-regulation by hyperglycaemia. *Cardiovasc Res* 2015;106(1):98-108.
46. Perissinotti LL, De Biase PM, Guo J, Yang PC, Lee MC, Clancy CE, et al. Determinants of isoform-specific gating kinetics of hERG1 channel: combined experimental and simulation study. *Front Physiol* 2018;9:207.
47. Gustina AS, Trudeau MC. HERG potassium channel regulation by the N-terminal eag domain. *Cell Signal* 2012;24:1592-1598.
48. Akhavan A, Atanasiu R, Noguchi T, Han W, Holder N, Shrier, A. Identification of the cyclic-nucleotide-binding domain as a conserved determinant of ion-channel cell-surface localization. *J Cell Sci* 2005;118(Pt 13):2803-2812.
49. January CT, Gong Q, Zhou Z. Long QT syndrome: cellular basis and arrhythmia mechanism in LQT2. *J. Cardiovasc Electrophysiol* 2000;11:1413-1418.
50. Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Chen PS, Qu Z. Early afterdepolarizations and cardiac arrhythmias. *Heart Rhythm* 2010;7:1891-1899.
51. Grilo LS, Carrupt PA, Abriel H. Stereoselective Inhibition of the hERG1 Potassium Channel. *Front Pharmacol* 2010;1:137.
52. Bjerregaard P. Diagnosis and management of short QT syndrome. *Heart Rhythm* 2018;15(8):1261-1267.
53. Kylin E. Studien über das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämie-syndrom. *Zentralblatt für Innere Medizin* 1923;44:105-127.
54. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr* 1956;4:20-34.



55. Avogaro P, Crepaldi G, Enzi G, Tiengo A. Associazione di iperlipidemia, diabete mellito e obesita de medio grado. *Acto Diabetol Lat* 1967;4:36-41.
56. Modan M, Halkin H, Almog S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, et al. Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucoseintolerance. *J Clin Invest* 1985;75:809-17.
57. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *Diabetes Care* 2004;27(10):2444-2449.
58. Onat A, Yüksel M, Köroğlu B, Gümrükçüoğlu HA, Aydın M, Çakmak HA, et al. TEKHARF 2012: Genel ve koroner mortalite ile metabolik sendrom prevalansı eğilimleri. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2013;41(5):373-378.
59. Cardinali DP, Cano P, Jiménez-Ortega V, Esquifino AI. Melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications. *Neuroendocrinology* 2011;93(3):133-142.
60. Kesse-Guyot E, Julia C, Andreeva V, Fezeu L, Hercberg S, Galan P. Evidence of a cumulative effect of cardiometabolic disorders at midlife and subsequent cognitive function. *Age Ageing* 2015;44:648-654.
61. Huang PL. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab* 2009;20(6):295-302.
62. Gaby AR. Adverse effects of dietary fructose. *Altern Med Rev* 2005;10(4):294-306.
63. Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Sautin YY, Manitius J, Sanchez-Lozada LG, Feig DI, et al. Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocr Rev* 2009;30(1):96-116.
64. Zawieja SD, Gasheva O, Zawieja DC, Muthuchamy M. Blunted flow-mediated responses and diminished nitric oxide synthase expression in lymphatic thoracic ducts

- of a rat model of metabolic syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2016;310(3):H385-93.
65. Portman OW, Lawry EY, Bruno D. Effect of dietary carbohydrate on experimentally induced hypercholesteremia and hyperbetalipoproteinemia in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956;91:321-323.
66. al-Nagdy S, Miller DS, Yudkin J. Changes in body composition and metabolism induced by sucrose in the rat. *Nutr Metab* 1970;12:193-219.
67. Bruckdorfer KR, Kang SS, Yudkin J. Plasma concentrations of insulin, corticosterone, lipids and sugars in rats fed on meals with glucose and fructose. *Proc Nutr Soc* 1973;32:12A-13A.
68. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol* 2006;290:F625-F631.
69. Reungjui S, Roncal CA, Mu W, Srinivas TR, Sirivongs D, Johnson RJ, Nakagawa T. Thiazide diuretics exacerbate fructose-induced metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2724-2731.
70. Shapiro A, Mu W, Roncal CA, Cheng KY, Johnson RJ, Scarpace PJ. Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high fat feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295:R1370-R1375.
71. Tayfur P, Palabıyık O, Uzun N, Süt N, Vardar SA. Fruktozdan zengin beslenen sıçanlarda istemli fiziksel aktivitenin metabolik ve kardiyak işlevlere etkisi. *Genel Tıp Derg* 2019;29(2):65-72.
72. Goran MI, Uliaszek SJ, Ventura EE. High fructose corn syrup and diabetes prevalence: a global perspective. *Glob Public Health* 2013;8(1):55-64.

73. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang D-K, et al. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2007;86:899-906.
74. Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002;76(5):911-22.
75. Mostarda C, Moraes-Silva IC, Salemi VM, Machi JF, Rodrigues B, De Angelis K, et al. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. *Clinics (Sao Paulo)* 2012;67(7):815-20.
76. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab* 2005;2(1):5.
77. Morvan E, Lima NE, Machi JF, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC, et al. Metabolic, hemodynamic and structural adjustments to low intensity exercise training in a metabolic syndrome model. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12(89):1-10.
78. de Moura RF, Ribeiro C, de Oliveira JA, Stevanato E, de Mello MA. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *Br J Nutr* 2009;101(8):1178-84.
79. Burant CF, Takeda J, Brot-Laroche E, Bell GI, Davidson NO. Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. *J Biol Chem* 1992;267:14523-14526.
80. Tappy L, Le KA. Metabolic Effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* 2010;90:23-46.
81. Barone S, Fussell SL, Singh AK, Lucas F, Xu J, Kim C, et al. Slc2a5 (Glut5) is essential for the absorption of fructose in the intestine and generation of fructose-induced hypertension. *J Biol Chem* 2009;284:5056-5066.

82. <https://smart.servier.com/> Erişim tarihi: 30.05.2020 (Resim).
83. Merino B, Fernández-Díaz CM, Cózar-Castellano I, Perdomo G. Intestinal Fructose and Glucose Metabolism in Health and Disease. *Nutrients* 2019;12(1):94.
84. Pyörälä M, Miettinen H, Halonen P, Laakso M, Pyörälä, K. Insulin resistance syndrome predicts the risk of coronary heart disease and stroke in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(2):538-544.
85. Gören B, Fen T. Metabolik Sendrom. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008;28(5):686-96.
86. Wanahita N, Messerli FH, Bangalore S, Gami AS, Somers VK, Steinberg JS. Atrial fibrillation and obesity-results of a meta-analysis. *Am. Heart J* 2008;155:310-315.
87. Cipolla-Neto J, Amaral FGD. Melatonin as a hormone: New physiological and clinical insights. *Endocr Rev* 2018;39:990-1028.
88. Do Amaral FG, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch. Endocrinol Metab* 2018;62:472-479.
89. Singh M, Jadhav HR. Melatonin: functions and ligands. *Drug Discov Today* 2014;19(9):1410-1418.
90. Jockers R, Delagrangé P, Dubocovich ML, Markus RP, Renault N, Tosini G, et al. Update on melatonin receptors: IUPHAR Review 20. *Br J Pharmacol* 2016;173(18):2702-2725.
91. Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine* 2005;27:101-110.

92. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJ, Zisapel N, et al. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol* 2008;85:335-353.
93. Slominski A, Tobin DJ, Zmijewski MA, Wortsman J, Paus R. Melatonin in the skin: synthesis, metabolism and functions. *Trends Endocrinol Metab* 2008;19:17-24.
94. Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T, Mahle CD, Kolakowski LF Jr. Cloning of a melatonin-related receptor from human pituitary. *FEBS Lett* 1996;386:219-224.
95. Slominski A, Fischer TW, Zmijewski MA, Wortsman J, Semak I, Zbytek B, Slominski RM, Tobin DJ. On the role of melatonin in skin physiology and pathology. *Endocrine* 2005;27:137-148.
96. Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, Ostrom RS, Slominski AT. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol Cell Endocrinol* 2012;351(2):152-66.
97. Topal T, Öter S, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Derg* 2009;19(3):137-143.
98. Ekmekçioğlu C. Melatonin receptors in humans: Biological role and clinical relevance. *Biomed Pharmacother* 2006;60:97-108.
99. Hardeland R. Taxon and site specific melatonin catabolism. *Molecules* 2017;22(11):pii:E2015.
100. Buman MP, Phillips BA, Youngstedt SD, Kline CE, Hirshkowitz M. Does nighttime exercise really disturb sleep? Results from the 2013 National Sleep Foundation Sleep in America Poll *Sleep Med* 2014;15(7):755-761.
101. Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:4453-4458.

102. Bixler E. Sleep and society: an epidemiological perspective. *Sleep Med* 2009;10(suppl1):S3-S6.
103. Buijs RM, Scheer FA, Kreier F, Yi C, Bos N, Goncharuk VD, et al. Organization of circadian functions: interaction with the body. *Prog Brain Res* 2006;153:341-360.
104. Peschke E, Stumpf I, Bazwinsky I, Litvak L, Dralle H, Muhlbauer E. Melatonin and type 2 diabetes-a possible link? *J Pineal Res* 2007;42:350-358.
105. Nishida S, Segawa T, Murai I, Nakagawa S. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of 5-desaturase activity. *J Pineal Res* 2002;32:26-33.
106. Paskaloglu K, Sener G, Ayangolu-Dulger G. Melatonin treatment protects against diabetes-induced functional and biochemical changes in rat aorta and corpus cavernosum. *Eur J Pharmacol* 2004;499:345-354.
107. Reyes Toso C, Linares LM, Ricci C, Obaya-Naredo D, Pinto JM, Rodríguez R, et al. Melatonin restores endothelium-dependent relaxation in aortic rings of pancreatectomized rats. *J Pineal Res* 2005;39:386-391.
108. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W, Kim SJ, El Sakkary GH. Ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in the isolated rat heart: prevention by melatonin. *J Pineal Res* 1998;25:184-191.
109. Castagnino HE, Lago N, Centrella JM, Calligaris SD, Farina S, Sarchi MI, et al. Cytoprotection by melatonin and growth hormone in early rat myocardial infarction as revealed by Feulgen DNA staining. *Neuroendocrinol Lett* 2002;23:391-395.
110. Prunet-Marcassus B, Desbazeille M, Bros A, Louche K, Delagrangre P, Renard P, et al. Melatonin reduces body weight gain in Sprague-Dawley rats with diet-induced obesity. *Endocrinology* 2003;144:5347-5352.

111. Mozos I. Links between shift work, cardiovascular risk and disorders in shift work: impacts, disorders and studies. Nova Science Pub Inc 2017;23-44.
112. Baker J, Kimpinski K. Role of melatonin in blood pressure regulation: an adjunct anti-hypertensive agent. Clin Exp Pharmacol Physiol 2018;45:755-766.
113. Mukherjee D, Ghosh AK, Bandyopadhyay A, Basu A, Datta S, Pattari SK, et al. Melatonin protects against isoproterenol-induced alterations in cardiac mitochondrial energymetabolizing enzymes, apoptotic proteins, and assists in complete recovery from myocardial injury in rats. J Pineal Res 2012;53:166-179.
114. Barrett TJ, Murphy AJ, Goldberg IJ, Fisher EA. Diabetes-mediated myelopoiesis and the relationship to cardiovascular risk. Ann N Y Acad Sci 2017;1402:31-42.
115. Reutrakul S, Sumritsopak R, Saetung S, Chanprasertyothin S, Chailurkit LO, Anothaisintawee T. Lower nocturnal urinary 6- sulfatoxymelatonin is associated with more severe insulin resistance in patients with prediabetes. Neurobiol Sleep Circadian Rhythms 2018;4:10-16.
116. Nduhirabandi F, Huisamen B, Strijdom H, Lochner A, Huisamen B. Role of melatonin in glucose uptake by cardiomyocytes from insulin-resistant Wistar rats. Cardiovasc J Afr 2017;28:362-369.
117. Santos RMD, Marani F, Chiba FY, Mattera M, Tsosura TVS, Tessarin GWL, et al. Melatonin promotes reduction in TNF levels and improves the lipid profile and insulin sensitivity in pinealectomized rats with periodontal disease. Life Sci 2018;213:32-39.
118. Butun I, Ekmekci H, Ciftci O, Sonmez H, Caner M, Altug T, et al. The effects of different doses of melatonin on lipid peroxidation in diet-induced hypercholesterolemic rats. Bratisl Med J 2013;114:129-132.
119. Salari Lak L, Heidari R, Nejati V. Protective effects of melatonin on lipid profile in fructose induced Dyslipidemia. Iran J Endocrinol Metab 2011;13:406-411.

120. Prado NJ, Ferder L, Manucha W, Diez ER. Anti-inflammatory effects of melatonin in obesity and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2018;20:45.
121. Nduhirabandi F, Huisamen B, Strijdom H, Blackhurst D, Lochner A. Short-term melatonin consumption protects the heart of obese rats independent of body weight change and visceral adiposity. *J Pineal Res* 2014;57:317-332.
122. Cipolla-Neto J, Amaral FG, Afeche SC, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res* 2014;56:371-381.
123. Pechanova O, Paulis L, Simko F. Peripheral and central effects of melatonin on blood pressure regulation. *Int J Mol Sci* 2014;15:17920-17937.
124. Klimentova J, Cebova M, Barta A, Matuskova Z, Vrankova S, Rehakova R, et al. Effect of melatonin on blood pressure and nitric oxide generation in rats with metabolic syndrome. *Physiol Res* 2016;65:S373-s380.
125. Su H, Chen T, Li J, Xiao J, Wang S, Guo X, Bu P. Correlations of serum cyclophilin a and melatonin concentrations with hypertension-induced left ventricular hypertrophy. *Arch Med Res* 2017;48:526-534.
126. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Piccolo R, Galasso G, Reiter RJ. Melatonin is associated with reverse remodeling after cardiac resynchronization therapy in patients with heart failure and ventricular dyssynchrony. *Int J Cardiol* 2016;221:359-363.
127. Yu L, Fan C, Li Z, Zhang J, Xue X, Xu Y, et al. Melatonin rescues cardiac thioredoxin system during ischemia-reperfusion injury in acute hyperglycemic state by restoring Notch1/Hes1/Akt signaling in a membrane receptor-dependent manner. *J Pineal Res* 2017;62:e12375.



128. Zhou H, Yue Y, Wang J, Ma Q, Chen Y. Melatonin therapy for diabetic cardiomyopathy: a mechanism involving Sykmitochondrial complex I-SERCA pathway. *Cell Signal* 2018;47:88-100.
129. Simko F, Bednarova KR, Krajcirovicova K, Hrenak J, Celec P, Kamodyova N, et al. Melatonin reduces cardiac remodeling and improves survival in rats with isoproterenol-induced heart failure. *J Pineal Res* 2014;57:177-184.
130. Simko F, Baka T, Paulis L, Reiter RJ. Elevated heart rate and nondipping heart rate as potential targets for melatonin: a review. *J Pineal Res* 2016;61:127-137.
131. Castro EFS, Mostarda CT, Rodrigues B, Moraes-Silva IC, Feriani DJ, Angelis K De, Irigoyen MC. Exercise training prevents increased intraocular pressure and sympathetic vascular modulation in an experimental model of metabolic syndrome. *Braz J Med Biol Res* 2015;48(4):332-338.
132. Demirtas CY, Pasaoglu OT, Bircan FS, Kantar S, Turkozkan N. The investigation of melatonin effect on liver antioxidant and oxidant levels in fructose-mediated metabolic syndrome model. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19(10):1915-1921.
133. Ovali MA, Uzun M. The effects of melatonin administration on KCNQ and KCNH2 gene expressions and QTc interval in pinealectomised rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2017;63(3):45-50.
134. Bazett HC. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Heart* 1920;(7):353-370.
135. Fridericia LS. The duration of systole in the electrocardiogram of normal subjects and of patients with heart disease. *Acta Medica Scandinavica* 1920;53:469-486.
136. van Dijk TH, Laskewitz AJ, Grefhorst A, Boer TS, Bloks VW, Kuipers F, et al. A novel approach to monitor glucose metabolism using stable isotopically labelled glucose in longitudinal studies in mice. *Lab Anim* 2013;47(2):79-88.

137. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods* 2001;25(4):402-408.
138. Reshidan NH, Muid SA, Mamikutty N. The effects of *Pandanus amaryllifolius* (Roxb.) leaf water extracts on fructose-induced metabolic syndrome rat model. *BMC Complement Altern Med* 2019;19:232.
139. Chiavaroli L, de Souza RJ, Ha V, Cozma AI, Mirrahimi A, Wang DD, et al. Effect of fructose on established lipid targets: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *J Am Heart Assoc* 2015;4(9):e001700.
140. Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proenca C, Sparso T, Holmkvist J, Marchand M, et al. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasmaglucoase levels and type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2009;41(1):89-94.
141. Bonnefond A, Clement N, Fawcett K, Yengo L, Vaillant E, Guillaume JL, et al. Rare MTNR1B variants impairing melatonin receptor 1B function contribute to type 2 diabetes. *Nat Genet* 2012;44(3):297-301.
142. Mäntele S, Otway DT, Middleton B, Bretschneider S, Wright J, Robertson MD, et al. Daily rhythms of plasma melatonin, but not plasma leptin or leptin mRNA, vary between lean, obese and type 2 diabetic men. *PLoS ONE* 2012;7(5):e37123.
143. Corbalán-Tutau D, Madrid JA, Nicolás F, Garaulet M. Daily profile in two circadian markers “melatonin and cortisol” and associations with metabolic syndrome components. *Physiol Behav* 2014;123:231-235.
144. Leibowitz A, Peleg E, Sharabi Y, Shabtai Z, Shamiss A, Grossman E. The role of melatonin in the pathogenesis of hypertension in rats with metabolic syndrome. *Am J Hypertens* 2008;21(3):348-51.
145. K-Laflamme A, Wu L, Foucart S, de Champlain J. Impaired basal sympathetic tone and alpha1-adrenergic responsiveness in association with the hypotensive effect of melatonin in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1998;11:219-229.

146. Girouard H, Chulak C, Lejossec M, Lamontagne D, de Champlain J. Vasorelaxant effects of the chronic treatment with melatonin on mesenteric artery and aorta of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2001;19:1369-1377.
147. Anwar MM, Meki AR, Rahma HH. Inhibitory effects of melatonin on vascular reactivity: possible role of vasoactive mediators. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2001;130:357-367.
148. Gomes Domingos AL, Hermsdorff HHM, Bressan J. Melatonin intake and potential chronobiological effects on human health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019;59:133-140.
149. Kitagawa A, Ohta Y, Ohashi K. Melatonin improves metabolic syndrome induced by high fructose intake in rats. *J Pineal Res* 2012;52(4):403-413.
150. Obayashi K, Saeki K, Iwamoto J, Okamoto N, Tomioka K, Nezu S, et al. Exposure to light at night, nocturnal urinary melatonin excretion, and obesity/dyslipidemia in the elderly: a cross-sectional analysis of the HEIJO-KYO study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:337-344.
151. Imenshahidi M, Karimi G, Hosseinzadeh H. Effects of melatonin on cardiovascular risk factors and metabolic syndrome: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2020;393(4):521-536.
152. Martinez-Mateu L, Saiz J, Aromolaran AS. Differential modulation of  $IK$  and  $ICa_l$  channels in high-fat diet-induced obese guinea pig atria. *Front Physiol* 2019;10:1212.
153. Nakaya H, Furusawa Y, Ogura T, Tamagawa M, Uemura H. Inhibitory effects of JTV-519, a novel cardioprotective drug, on potassium currents and experimental atrial fibrillation in guinea-pig hearts. *Br. J. Pharmacol* 2000;131:1363-1372.
154. Bektaşoğlu G, Yılmaz B, Turgut O, Tandoğan İ. Uzun QT sendromları. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2009;31:487-501.

155. Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, Moss AJ, Vincent GM, Napolitano C, et al. Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation* 2001;103:89-95.



## ŞEKİLLER LİSTESİ

### ŞEKİLLER

- Şekil 1.** Kardiyak Potasyum akımları ve kanalları
- Şekil 2.** Kv7 kanallarının şematik görünümü
- Şekil 3.** Kv11.1 kanalı şematik gösterimi
- Şekil 4.** Ventriküler aksiyon potansiyeli anormallikleri
- Şekil 5.** Yüksek fruktoz tüketiminin organlar üzerindeki bazı olumsuz etkileri
- Şekil 6.** Fruktozun enterosite girişi ve kapiller kana geçişi
- Şekil 7.** Obeziteye bağlı kardiyak iyon kanalı aktivite değişimleri
- Şekil 8.** Melatoninin sentez basamakları
- Şekil 9.** Melatoninin metabolik sendrom üzerine olumlu etkileri
- Şekil 10.** Kuyruktan tail-cuff pletismografi yöntemiyle kan basıncı ölçümü
- Şekil 11.** Elektrokardiyografi kaydı alınması
- Şekil 12.** İnsülin ELISA tayini standart regresyon grafiği
- Şekil 13.** Grupların insulin değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 14.** Grupların glikoz değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 15.** Grupların HOMA-IR değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 16.** Grupların trigliserit değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 17.** Grupların total kolesterol değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 18.** Grupların HDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 19.** Grupların LDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 20.** Grupların 6. hafta sistolik kan basıncı değerlerinin karşılaştırılması

- Şekil 21.** Grupların 8. hafta sistolik kan basıncı değerlerinin karşılaştırılması
- Şekil 22.** KCNQ1 genine ait amplifikasyon eğrisi
- Şekil 23.** KCNQ3 genine ait amplifikasyon eğrisi.
- Şekil 24.** KCNQ4 genine ait amplifikasyon eğrisi
- Şekil 25.** KCNQ5 genine ait amplifikasyon eğrisi
- Şekil 26.** KCNH2 genine ait amplifikasyon eğrisi
- Şekil 27.** Grupların KCNQ1 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri
- Şekil 28.** Grupların KCNQ3 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri
- Şekil 29.** Grupların KCNQ4 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri
- Şekil 30.** Grupların KCNQ5 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri
- Şekil 31.** Grupların KCNH2 gen ifadesindeki rölatif kat değişimleri
- Şekil 32.** Tüm grupların QTcB ve QTcF verilerinin karşılaştırılması
- Şekil 33.** İncelenen kardiyak parametreler ve bu parametrelere bağlı öngörülen riskler

## **TABLolar**

- Tablo 1.** Farklı kurumlar tarafından uygulanmakta olan metabolik sendrom tanı kriterleri
- Tablo 2.** Melatonin reseptörleri ve buldukları yerlerdeki görevleri
- Tablo 3.** Çalışma grupları
- Tablo 4.** Kan basıncı hesaplama formülü
- Tablo 5.** cDNA sentez protokolü
- Tablo 6.** RT-PCR malzeme miktarları
- Tablo 7.** RT-PCR sentez basamak ayarları
- Tablo 8.** Deney gruplarının biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 9.** Deney gruplarının hemodinamik parametrelerinin 1. gün karşılaştırılması
- Tablo 10.** Deney gruplarının hemodinamik parametrelerinin 6. hafta karşılaştırılması
- Tablo 11.** Deney gruplarının Hemodinamik parametrelerinin 8. hafta karşılaştırılması

## ÖZGEÇMİŞ

Giresun'un Şebinkarahisar ilçesinde doğdum. İlköğretimimi Şebinkarahisar İstiklal İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra Çanakkale Vahit Tuna Anadolu Lisesi'nde lise öğrenimimi bitirdim. İstanbul Fatih Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji (İngilizce) bölümünden 2011 yılında mezun oldum. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı'nda 09.01.2015 tarihinde Yüksek Lisans eğitimimi tamamladım. 2015 yılı Ocak ayında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloj (Tıp) Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimime başladım. Halen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi'nde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

### ESERLER

#### **SCI ve SSCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Uluslararası Makaleler**

- Doğanlar O, Doğanlar ZB, Ovali MA, Güçlü O, Demir U, Doğan A, Uzun M. "Melatonin regulates oxidative stress and apoptosis in fetal hearts of pinealectomised RUPP rats". Hypertens Pregnancy, 1-15, 2020
- Öztopuz R.Ö., Türkön H., Büyük B., Çoşkun Ö., Şehitoğlu H., Ovali M.A., et al.,"Melatonin ameliorates sodium valproate-induced hepatotoxicity in rats", Molecular Biology Reports, 1:1-9, 2020
- Öztopuz R.Ö., Türkön H., Şehitoğlu H., Büyük B., Uzun M., Ovali M.A., et al.,"Hyperbaric oxygen treatment ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity and



- expression of kidney injury molecule 1 in the rat model ", Undersea & Hyperbaric Medicine, 46(2):125-133, 2019
- Doğanlar Z., Uzun M., Ovali M.A., Dogan A., Ongoren G., Doğanlar O., "Melatonin attenuates caspase-dependent apoptosis in the thoracic aorta by regulating element balance and oxidative stress in pinealectomized rats.", Appl Physiol Nutr Metab. 44(2):153-163,2019
  - Karaboğa I., Ovali M.A., Yılmaz A., Alpaslan M., "Gastroprotective effect of apricot kernel oil in ethanol-induced gastric mucosal injury in rats.", Biotechnic & Histochemistry, 1:1-7, 2018
  - Uzun M., Gencer M., Türkön H., Öztopuz R.Ö., Demir U., Ovali M.A., "Effects of Melatonin on Blood Pressure, Oxidative Stress and Placental Expressions of TNFalfa, IL-6, VEGF and sFlt-1 in RUPP Rat Model of Preeclampsia", Archives of Medical Research, 1:1-7, 2018
  - Doğanlar Z.B., Doğanlar O., Uzun M., Ovali M.A., Öngören G., "Protective role of melatonin against caspase dependent apoptosis in thoracic aorta tissue of pinealectomised rats", Acta Physiologica, 221:125-125, 2017
  - Ovali M.A., Uzun M., "The effects of melatonin administration on KCNQ and KCNH2 gene expressions and QTc interval in pinealectomised rats", Cellular and Molecular Biology, 63:3-9, 2017
  - Şen H., Erbağ G., Ovali M.A., Öztopuz R.Ö., Uzun M., "Investigation of endocrine and immunological response in fat tissue to hyperbaric oxygen administration in rats", Cellular and Molecular Biology, 62:14-18, 2016
  - Toman H., Erbaş M., Kiraz H.A., Şahin H., Ovali M.A., Uzun M., "Comparison of effects of classic LMA, cobraPLA and V-gel rabbit on QTc interval", Bratislava Medical Journal-Bratislavske Lekarske Listy, 116:632-636, 2015

- Uzun M., Kiraz H.A., Ovali M.A., Şahin H., Erbaş M., Toman H., "The Investigation of Airway Management Capacity of V-Gel And Cobra-Pla in Anaesthetised Rabbits.", *Acta Cirurgica Brasileira*, 1,1-7, 2015
- Toman H., Erbaş M., Şahin H., Kiraz H.A., Uzun M., Ovali M.A., "Comparison of The Effects of Various Airway Devices on Hemodynamic Response and Qtc Interval in Rabbits Under General Anesthesia.", *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, 29(6):727-32, 2015
- Uzun M., Barutçu A., Toman H., Erbaş M., Ovali M.A., Bekler A., "The Investigation of Melatonin and Remifentanyl Injection on Hemodynamic and Cardiac Parameters in Anaesthetised Rabbits", *Acta Physiologica*, 215:..23-23, 2015
- Gungor A.N.C., Türkön H., Albayrak A., Ovali M.A., Islimye M., Gencer M., et al., "Does Omegaven have beneficial effects on a rat model of ovarian ischemia/reperfusion?", *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 181:240-245, 2014

#### **Ulusal Dergilerde Yayınlanan Makaleler**

- Karaboğa İ., Dökmeci A.H., Ovali M.A., Yılmaz A., "Etanol Uyarımlı Sıçan Akut Mide Mukoza Hasar Modelinde Hypericum Perforatum un Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi", *Namık Kemal Medical Journal*, 5:99-108, 2017.

#### **Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar/Bildiriler**

- Uzun M., Doğanlar O., Eroğlu H.A., Öztopuz R.Ö., Büyük B. , Ovali M.A., et al., "Melatoninin Kalp Kası DRP1 ve FIS1 Gen Ekspresyonu Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması", *Union of Thrace Universities 3rd International Health Sciences Congress, Çanakkale, Türkiye, 24 Eylül 2019 - 26 Ocak 2020*, pp.230-235
- Şehitoğlu H., Öztopuz R.Ö., Ovali M.A., Büyük B., Türkön H., "Septik Sıçanlarda Timol Tedavisinin Böbrek ve Akciğer Dokuları Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi", *Trakya Üniversiteler Birliği III. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Çanakkale, Türkiye, 24-26 Ekim 2019*, pp.246-254

- Coşkun Ö., Öztopuz R.Ö., Ovali M.A., "Biyobelirteçlerin Klinik Kullanımı", 2nd International Hippocrates Congress on Medical Sciences, İstanbul, Türkiye, 28-30 Haziran 2019, pp.25-35
- Coşkun Ö., Öztopuz R.Ö., Ovali M.A., "Elektroforez ve Klinik Uygulamaları", 1.Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi, Ankara, Türkiye, 1-3 Mart 2019, pp.260-74
- Öztopuz R.Ö., Coşkun Ö., Ovali M.A., "Kitosan Ve Türevlerinin Biyoteknolojik Ve Biyomedikal Uygulamaları", 1.Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi, Ankara, Türkiye, 1-3 Mart 2019, pp.275-86
- Öztopuz R.Ö., Türkön H., Büyük B., Coşkun Ö., Şehitoğlu H., Ovali M.A., et al., "Protective Role of Melatonin Against Valproic Acid (vpa) Induced Liver Toxicity", 2. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Tekirdağ, Türkiye, 15-17 Kasım 2018, vol.1, no.1, pp.11-12
- Öztopuz R.Ö., Türkön H., Şehitoğlu H., Büyük B., Uzun M., Ovali M.A., et al., "Protective effect of hyperbaric oxygen therapy on gentamicin-induced nephrotoxicity", 7th International Molecular Biology and Biotechnology Congress, Konya, Türkiye, 25-27 Nisan 2018, pp.48-48
- Karaboğa İ., Şahin Kaya A. , Ovali M.A., Alpaslan M., "Apricot Kernel Oil Consumption Prevents Severity of Peptic Ulcer by Reducing Hsp70 Expression.; an Experimental Study", Uluslararası Sağlıklı Beslenme Kongresi, Gastrointestinal Hastalıklar, İzmir, Türkiye, 5-7 Ekim 2017, pp.22-22
- Karaboğa İ. , Şahin Kaya A. , Ovali M.A., "The Effect of John's Wort and Olive Oil On Apoptosis Related Proteins in Ethanol-Induced Acute Gastric Ulcer Model in Rats", Uluslararası Sağlıklı Beslenme Kongresi, Gastrointestinal Hastalıklar, İzmir, Türkiye, 5-7 Ekim 2017, pp.83-83
- Uzun M., Öztopuz R.Ö., Türkön H., Gencer M., Demir U. , Ovali M.A., "Deneysel Preeklampsi Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Melatoninin Antihipertansif ve Antioksidan Etkileri ile Plasental TNFalfa, IL-6, VEGF ve sFlt-1 Gen Ekspresyonları

Üzerine Etkilerinin Araştırılması", 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Denizli, Türkiye, 7-10 Eylül 2017, ss.1-1

- Karaboğa İ. , Dökmeci A.H., Ovali M.A., Erboğa M. , Yılmaz A., "Antiapoptotic and antiinflammatory effect of Hypericum perforatum (L) on ethanol-induced gastric damage in rats", 3. International Conference on Engireeing and Natural Sciences, Budapeşte, Macaristan, 3-7 Mayıs 2017, pp.1-1
- Türkön H., Arik M., Uysal S., Özkul F., Diniz G. , Ekmekçi S., et al., "Vitamin U'nun Rat Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Etkisinin Değerlendirilmesi", Türk Klinik Biyokimya Kongresi, Girne, Kuzey Kıbrıs Türk Cum., 4-7 Mayıs 2017, pp.1-1

### Google Akademik Linkleri ve H İndeksi

Web of Science H İndeksi: 3

### Atıflar

ISI Web of Science Dizinlerinde Taranan Dergilerdeki ve Diğer Uluslararası Yayınlardaki Toplam Atıflar: 46

### Yer Aldığı Bilimsel Projeler

Proje Türü	Proje Adı	Görevi	Süre(Ay)	Bütçesi	Yıl
BAP Arastırma Projesi	Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Gentamisin Kaynaklı Böbrek Toksikitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması	Araştırmacı	8	4099,93 TL	Devam Ediyor
BAP Arastırma Projesi	Melatonin ile Kalp ve Aort Dokusu Mitokondriyal İşlevler Arasındaki İlişkinin Araştırılması	Araştırmacı	12	17945,52 TL	Devam Ediyor
BAP Arastırma Projesi	Melatoninin Valproik Asite Bağlı Karaciğer Toksikitesinden Koruyucu Etkisinin Araştırılması	Araştırmacı	12	16904,12 TL	Devam Ediyor
BAP Arastırma Projesi	Sıçanlarda Oluşturulan Farklı Akut Gastrik Ülser Modellerinde Humik Asitin Etkilerinin İncelenmesi	Araştırmacı	8	17138,87 TL	2019
BAP Arastırma Projesi	Septik Sıçanlarda Timol Tedavisinin Böbrek ve Akciğer Dokuları Üzerindeki Etkisinin Genetik ve Biyokimyasal Açından İncelenmesi	Araştırmacı	8	11928,32 TL	2017
TÜBİTAK Projesi	Deneysel Preeklampsi Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Melatoninin Antihipertansif ve Antioksidan Etkileri ile Adiponektin TNFalfa IL 6 VEGF ve sFlt 1 Gen Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması	Bursiyer	18	131395 TL	2016

BAP Arastırma Projesi	Hipertansiyon Oluşturulan Ratlarda Melatonin Yokluğunun Genotoksik Etkilerinin Isışok Protein Antioksidan Enzim Gen Ekspresyonları RAPD Profili ve Telomer Uzunluğundaki Değişimlere Göre Araştırılması	Araştırmacı	12	15000 TL	2016
BAP Arastırma Projesi	Ratlarda Hiperbarik Oksijen Uygulamasına Yağ Dokunun Endokrin ve İmmunolojik Yanıtının İncelenmesi	Araştırmacı	12	19737,46 TL	2016
BAP Y.Lisans	Melatoninin Deneysel Hipertansiyon Oluşturulan Erkek Sıçanlarda KCNQ, KCNH2 Gen Ekspresyonları ile QT Süresi üzerine Etkileri	Araştırmacı	18	8294,48 TL	2015
BAP Arastırma Projesi	Tavşanlarda Farklı Havayolu Ara&ccedil; (cobra PLA, LMA, V-gel rabbit ve Endotrakeal entübasyon) Uygulamalarının Kardiyovasküler Sistem üzerine Etkileri	Araştırmacı	12	8999,54 TL	2015
BAP Arastırma Projesi	Tavşanlarda Farklı Havayolu Araçlarının Etkinliğinin Karşılaştırılması	Araştırmacı	12	8970,4 TL	2015
BAP Arastırma Projesi	Over Torsiyon Modelinde Omegaven'in Etkileri ve Sigara Dumanına Maruz kalan Sıçanlarda Omegaven'in Over Rezervi Üzerine Etkileri	Araştırmacı	12	7225,1 TL	2014

### **Bilimsel Dergilerdeki Görevler**

Troia Tıp Dergisi (Ulusal Hakemli Bilimsel Dergi):

Görevi: Editörler Kurulu Üyesi, Mizanpajcı, Sekreter. 11.09.2019 tarihinden itibaren

### **Bilimsel Hakemlikler**

- Uluslararası Dergi/Makale  
Dergi Adı: Journal of Pineal Research  
Tarih: Kasım 2018
- Uluslararası Dergi/Makale  
Dergi Adı: International Journal of Experimental Pathology  
Tarih: Temmuz 2015

### **Ödüller**

Akademik Teşvik Ödülü: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 2016

## **Ekler**



# Ek 1



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

## HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2018/04

Karar Tarihi: 30.04.2018

Karar No: 2018.04.01

Hayvan Sayısı ve Cinsi: 32 Sıçan

Yürürlüğü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. S. Arzu VARDAR'ın yaptığı, Mehmet Akif OVALI'nın Doktora Tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2018/17 protokol nolu "Melatoninin metabolik sendrom modeli oluşturulmuş sıçanlarda kardiyak iyon kanalları üzerine etkileri" başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmelik ve Trakya Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM  
Başkan

Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR  
Vet. Hek. Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

- KATILMADI -  
Prof. Dr. Y. Atakan SEZER  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

- KATILMADI -  
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR  
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

- MARELETİ -  
Ecz. F. Uygur GÜLER  
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Ayhan YILMAZ  
Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır